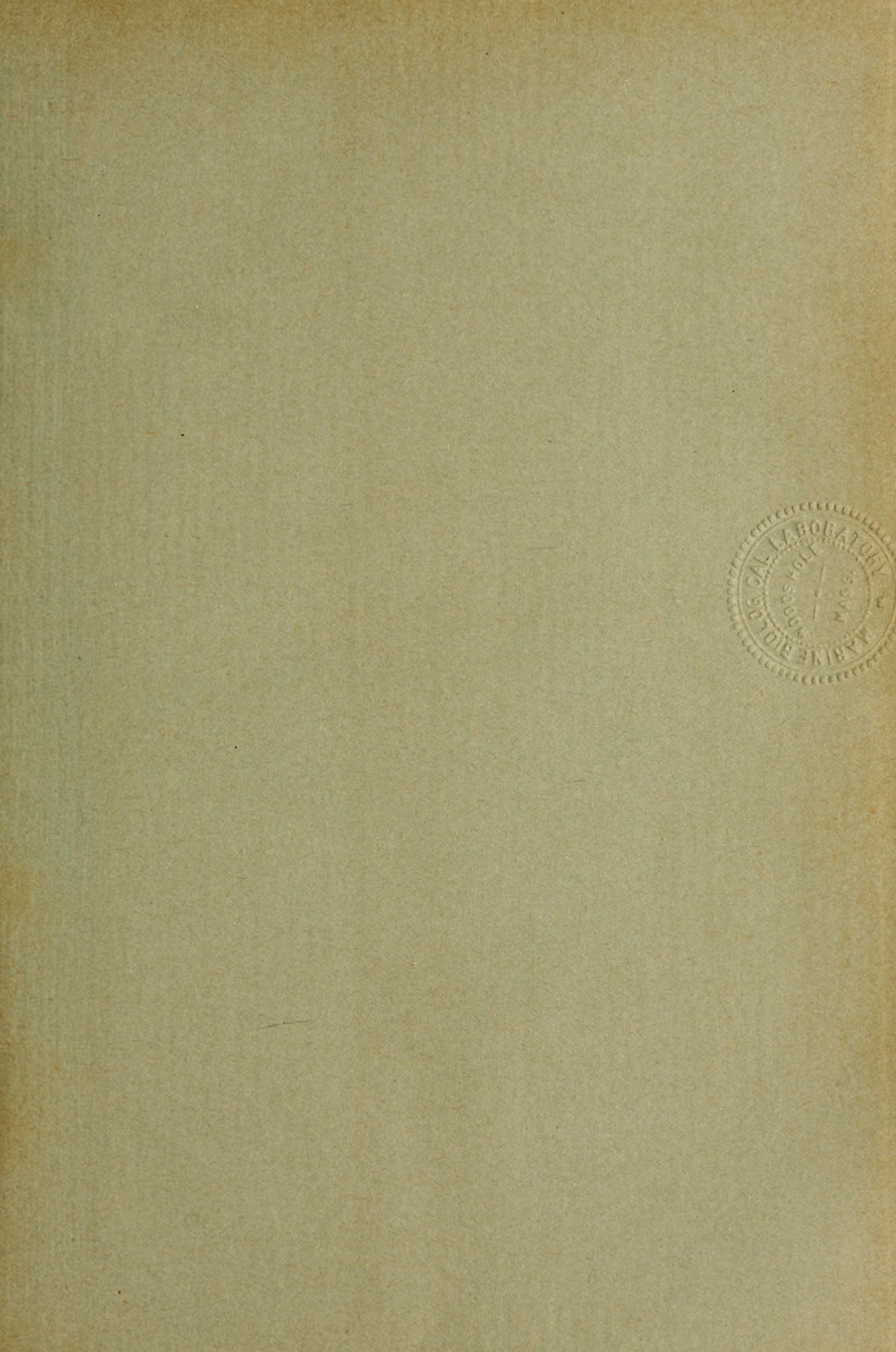
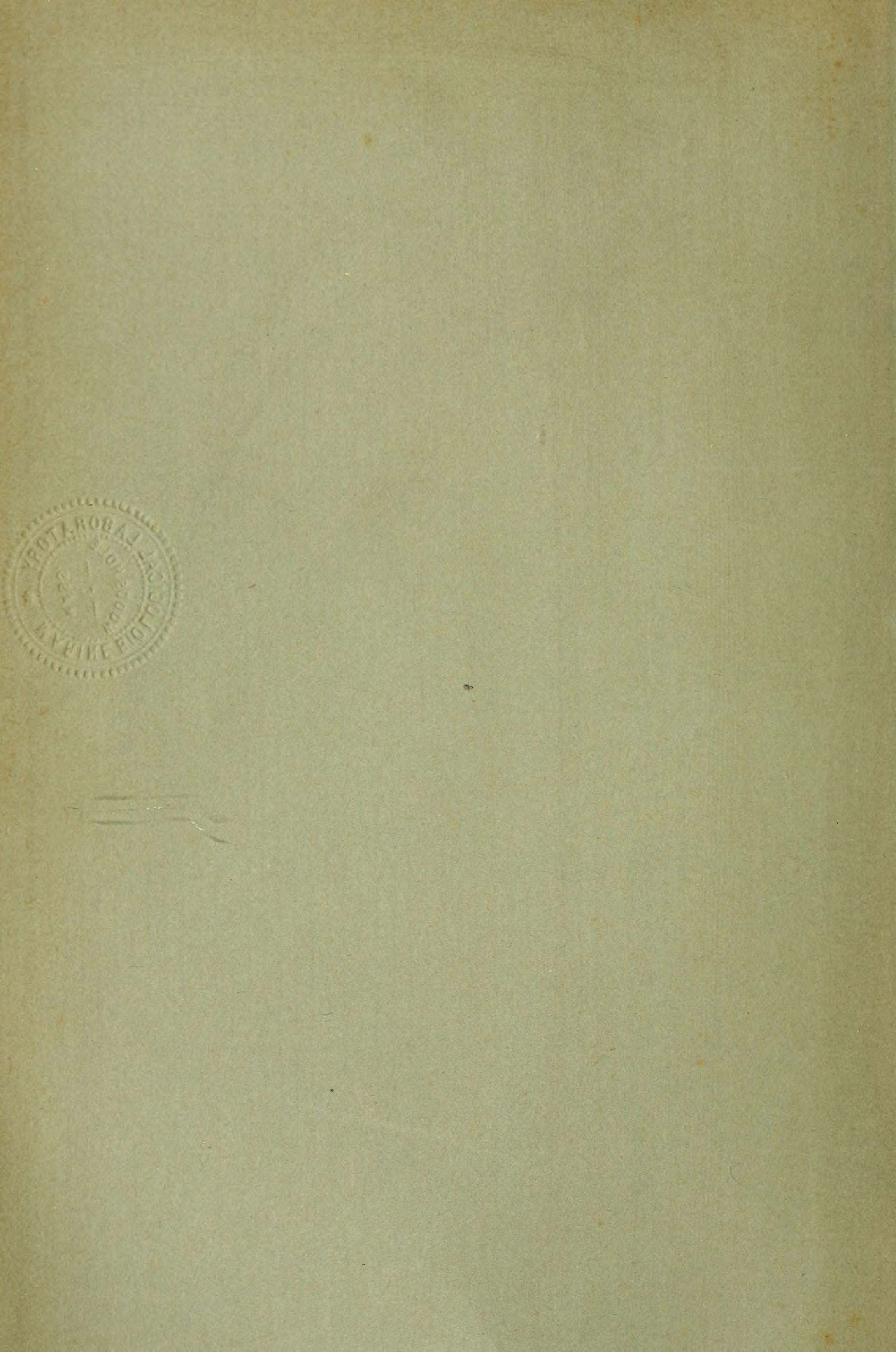

MARINE BIOLOGICAL LABORATORY
WOODS HOLE MASS.



JUNTA PARA AMPLIACIÓN DE ESTUDIOS E INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS FÍSICO-NATURALES

TRABAJOS DEL MUSEO NACIONAL DE CIENCIAS NATURALES

SERIE ZOOLÓGICA, NÚM. 18

LOS CROMOSOMAS

EN LA

ESPERMATOGÉNESIS DEL «BLAPS LUSITANICA» Herbst

POR

JOSE FERNÁNDEZ-NONIDEZ

(ILUSTRADA CON 59 FIGURAS)

(Se ha publicado este Trabajo el 15 Diciembre 1914.)

MADRID
IMPRENTA CLÁSICA ESPAÑOLA
Caños, 1.—Teléf.° 4.430.

1914

INTRODUCCIÓN

La importancia que ha adquirido en los últimos diez años el estudio de la espermatogénesis en los insectos, justificada por el comportamiento particular de ciertos cromosomas, llamados sexuales, que se reparten con desigualdad en los espermatozoides, originando dos clases de estos elementos de distinto valor morfológico, ha sido la causa de que numerosos investigadores hayan dedicado su atención a este interesante tema. Los resultados obtenidos por este estudio parecen arrojar alguna luz sobre el obscuro y complejo problema de la determinación del sexo, una de las cuestiones biológicas que más han preocupado a los hombres desde la antigüedad. La relación constante que existe para una misma especie entre los cromosomas de los individuos de sexo contrario, hace suponer que, por lo menos en el caso de los insectos y algunos otros animales, si los cromosomas sexuales no son estrictamente un determinante del sexo, son un carácter constante que acompaña a éste, quizás uno de los factores que entre el complejo de los que actúan sobre el ser, influye más notablemente en la determinación y herencia de la sexualidad.

En la actualidad, la atención y los esfuerzos de algunos biólogos se dirigen a confirmar los resultados obtenidos en los insectos, indagando si la relación que existe en los casos mejor conocidos se encuentra también en animales pertenecientes a los dis-

tintos órdenes de la escala zoológica. En los últimos años se ha podido comprobar la existencia de los cromosomas sexuales en la espermatogénesis y ovogénesis de algunos gusanos, equinodermos, aves y aun en el hombre mismo; en otros animales, sin embargo, no es posible determinar esto con certeza, sumándose a este resultado negativo un buen número de pruebas que hablan en favor de la predeterminación sexual en el óvulo, antes de la fecundación, y de la influencia que los factores del medio ambiente ejercen sobre la relación entre el número de individuos machos y hembras producidos en una misma generación.

Otra cuestión que preocupa grandemente a los biólogos es el papel que puedan ejercer estos cromosomas en la llamada herencia limitada al sexo (1), mediante la cual ciertos caracteres propios de uno de éstos se perpetúan en la especie sin aparecer, salvo raras ocasiones, en los individuos del sexo contrario. Este estudio constituye en nuestros días el objeto de cuidadosos experimentos e investigaciones que han dado por resultado el esclarecer algunos puntos que no encontraban una explicación satisfactoria en otras teorías.

Se ve, por lo expuesto, que aun queda un ancho campo de investigación en este sentido y que quizás se ha encontrado un indicio que nos puede guiar, a fuerza de trabajo constante y gran perseverancia, hasta la resolución de problemas de tan alto interés teórico como los apuntados.

*
* *

Animado por las consideraciones precedentes me propongo estudiar algunas de estas cuestiones. En el presente trabajo consigno los resultados a que he llegado en el estudio de la espermatogénesis de un tenebriónido, el *Blaps lusitanica* Herbst, bajo

---

(1) *Inheritance as limited to Sex*, como la denominó Darwin.

el aspecto de sus cromosomas, que será seguido tan pronto como sea posible, por un estudio de la ovogénesis y las células somáticas del embrión, tratando de confirmar la relación que existe entre ambos procesos en lo que se refiere a los cromosomas sexuales. Las dificultades que encierra este estudio me disculparán de algún error que pueda haberse deslizado en el curso del trabajo y que será corregido cuando llegue a conocer más a fondo las relaciones cromosómicas de los núcleos diploides en ambos sexos. Por otra parte, para un estudio experimental es de gran utilidad el conocimiento de estos hechos.

El plan que he seguido en la exposición de la materia es el siguiente: En la primera parte, me ha parecido oportuno resumir brevemente los hechos conocidos sobre la participación de los cromosomas en la determinación del sexo, demostrando de esta manera lo que se ha descubierto respecto a esta cuestión, basándose en los estudios citológicos. Además, esta parte general servirá para poner al lector al corriente de la diversidad que existe en el proceso madurativo de los insectos, que ha podido resumirse en tipos fundamentales, cuyo conocimiento es de la mayor importancia para las observaciones que me propongo exponer.

La segunda parte está dedicada exclusivamente a las observaciones llevadas a cabo en el *Blaps*. Mi intención primera había sido describir brevemente la mitosis somática, fijando con exactitud el número de cromosomas en el núcleo diploide de la espermatogonia, que es lo que particularmente interesa en un estudio de este género; pero la condición favorable en extremo de algunas de las figuras mitósicas, me proporcionaba la ocasión de aplicar a este caso las ideas de DEHORNE, que han amenazado echar por tierra la interpretación corriente de la mitosis somática (1). En la discusión que sigue a las observaciones considero con más

(1) Un resumen de la teoría de dicho autor puede verse en BORDÁS (1914), página 45.

detalle esta cuestión, marcando la contraposición que existe entre la opinión del autor citado y los resultados obtenidos en este caso.

El período meiótico de las células sexuales ha sido también objeto de una detenida atención, especialmente en lo que se refiere al mecanismo de las cinesis reductoras, por originarse en este momento el dimorfismo entre los espermatozoides.

Antes de terminar esta introducción debo expresar mi gratitud hacia las personas que me han ayudado durante la elaboración de este trabajo, y especialmente a D. A. de Zulueta, encargado del Laboratorio de prácticas de Biología del Museo Nacional de Ciencias Naturales, por las facilidades que me ha proporcionado para el buen éxito de la empresa.

Madrid, Diciembre de 1914.

PRIMERA PARTE

Los heterocromosomas y la determinación del sexo.

En el presente resumen de las ideas actuales sobre la participación de los heterocromosomas o *Sex-chromosomes*, como los ha llamado Wilson, en la determinación del sexo, me he guiado preferentemente por el trabajo de este autor (1911), cuya indiscutible autoridad en la materia le ha colocado a la cabeza de los investigadores en este género de estudios. En los últimos años los resultados adquiridos, en lo que se refiere a esta importante cuestión, han sido resumidos varias veces por los autores en diversos trabajos aparecidos. En obras de carácter más general podrá encontrar el lector deseoso de profundizar más en este asunto, la exposición de las teorías que pretenden explicar problema de tan enorme interés teórico. El discurso de Thomson (1911) resume brevemente las hipótesis que cuentan con más partidarios y mayor número de pruebas en su favor, considerando el valor que los hechos citológicos tienen para la resolución del problema.

Yo me he propuesto tan sólo exponer de una manera clara y sencilla, a grandes rasgos, y sin descender a pormenores históricos, los hechos demostrados que prestan considerable valor científico a las presunciones de los autores sobre el papel importante que probablemente juegan los cromosomas sexuales en la determinación y herencia del sexo.

La base sobre la cual se fundan las ideas que me propongo resumir, es el hecho conocido desde 1891, de que en los insectos existe un dimorfismo bien patente entre los espermatozoides que un mismo individuo produce, motivado por la presencia en la mitad de ellos, de un cromosoma sexual, que se consideró primeramente por MAC CLUNG (1902), sin apoyarse en ningún hecho experimental, tan sólo por analogía y en época en que no se conocían con detalle las células sexuales de la hembra, como el determinante del sexo macho. Posteriormente, desde 1905, la atención de varios observadores se dirigió al estudio de la ovogénesis, comparando entre sí los dos procesos madurativos en una misma especie descubriendo precisamente lo contrario de lo que MAC CLUNG afirmaba, esto es, que los espermatozoides con cromosoma sexual son los que reconstituyen el número somático de cromosomas del sexo hembra, reducido a la mitad por las divisiones de maduración y que en este último las células somáticas y las ovogonias llevan en su núcleo diploide un cromosoma más que en el macho. (WILSON, 1905). Al mismo tiempo se observó también que en algunos casos no sucede esto y que el núcleo diploide, lo mismo en el macho que en la hembra, lleva el mismo número de cromosomas, distinguiéndose tan sólo en que en el primero hay una pareja de cromosomas sexuales de tamaño muy desigual, manteniéndose el dimorfismo de los espermatozoides porque ambos cromosomas unidos entre sí por la sindesis al disociarse durante el proceso reductor, pasan respectivamente a la mitad de los espermatozoides producidos.

Comenzaré, por consiguiente, por la exposición más detenida de estos hechos fundamentales.

1.—Dimorfismo de los espermatozoides.

HENKING, en 1891, descubrió en el hemíptero *Pyrrhocoris apterus*, la existencia de un elemento particular que forma durante el período de reposo de los espermatocitos de primer orden un

nucleolo que presenta todas las reacciones de la cromatina. Al estudiar las mitosis de maduración, descubrió asimismo que en la segunda de éstas la cromatina se divide desigualmente, pasando doce cromosomas a una de las células hijas (espermátidas), mientras que la otra sólo recibe once de estos elementos, que en las espermatogonias existen en número de veinticuatro. Al transformarse las espermátidas en espermatozoides, originan dos clases de éstos, puesto que dos de ellos llevan un cromosoma más que los restantes.

Después de Henking, Wilcox (1895), en *Cicada tibicen* también figura en los espermatocitos un nucleolo cromatínico; pero ambos observadores no supieron comprender su verdadera naturaleza hasta que posteriormente Montgomery (1898) en *Pentatoma (Euchistus)*, y Mac Clung (1899) en un locústido *(Xiphidium)*, confirmaron los resultados obtenidos por los dos autores citados, reconociendo en el elemento descrito un cromosoma modificado. Las observaciones de estos dos últimos autores, sin embargo, difieren en un punto capital de las de Henking; ambos descubrieron que el nucleolo cromatínico *(accessory chromosoma* de Mac Clung) se divide como los restantes cromosomas. En los mismos años, Paulmier (1898-99) demostró que en las espermatogonias existen dos corpúsculos semejantes a nucleolos, y que en el espermatocito de primer orden, además de las tetradas formadas por los verdaderos cromosomas, aparece otra que nace a expensas del nucleolo cromatínico y que en lugar de dividirse como las demás diadas en la segunda división madurativa, pasa entera a una de las espermátidas.

Wilson (1905-09) ha demostrado que Paulmier sufrió una equivocación que ha perdurado después durante largo tiempo en los autores que le han seguido; Paulmier llegó a la conclusión errónea de que el nucleolo cromatínico que existe en el núcleo quiescente de los espermatocitos y que identificó correctamente con el cromosoma accesorio de las mitosis reductoras, nace a expensas de los dos corpúsculos de las espermatogonias *(m-chromoso-*

mes de Wilson), habiendo demostrado este último autor que su verdadero origen está en la transformación de un cromosoma espermatogonial más grande que los que le acompañan en la placa ecuatorial (cromosoma X) y que corresponde al nucleolo cromatínico de *Xiphidium*.

Fiel a mi propósito de ser breve, no insistiré más sobre estos puntos de interés puramente histórico, puesto que en el tiempo presente se ha demostrado palmariamente el error cometido por los autores.

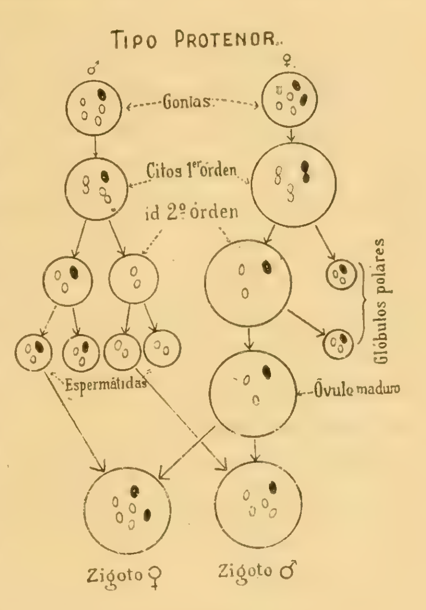
A partir de los trabajos citados, otros muchos han visto la luz pública, conteniendo observaciones sobre un gran número de insectos y algunos otros animales.

En la actualidad y siguiendo las ideas de Wilson, se distinguen dos tipos fundamentales en la marcha de la espermatogénesis en los insectos. El primero de éstos comprende todos aquellos casos en que existe un solo cromosoma sexual en las espermatogonias. Por haber sido estudiado principalmente en un hemíptero, el *Protenor,* se le designa con este nombre. En el segundo, llamado tipo *Lygaeus* por la misma razón que el anterior, se incluyen los insectos que presentan en sus espermatogonias dos cromosomas sexuales de tamaño desigual. Aun se podría considerar un tercer tipo formado por todos aquellos casos en los que el cromosoma X es compuesto, esto es, formado por varias porciones cromáticas que se funden en una masa única durante la mitosis reductora. Esta división en dos tipos principales se corresponde con la fundamental de las clasificaciones expuestas por Montgomery (1905), Gutherz (1907) y Davis (1908), que distinguen dos categorías principales formadas por los cromosomas que se presentan únicos en las espermatogonias (monosomas del primer autor) y los que aparecen en número par (diplosomas).

A continuación, y para fijar bien las ideas, describo brevemente la marcha del proceso espermatogenético en cada uno de los tipos citados.

TIPO PROTENOR.—La espermatogénesis y ovogénesis de este hemíptero es bien conocida, gracias a los trabajos de MONTGOMERY (1901), WILSON (1905) y MORRILL (1910).

En la placa ecuatorial de la espermatogonia, así como en la de las células somáticas del macho, existen trece cromosomas, entre los que se reconoce uno de mayor tamaño que ha sido denominado por WILSON cromosoma X. Este último no se conjuga durante la sindesis, permaneciendo aislado junto a los restantes elementos que forman seis parejas. En la primera mitosis de maduración (homeotípica en este caso) se divide cada pareja longitudinalmente. En la segunda mitosis, los elementos que forman cada una de éstas se disocian, caminando hacia los extremos opuestos del huso acromático; el cromosoma X, como es único, no participa de esta disociación, pasando entero a uno de los polos y, por consiguiente, a una de las dos espermátidas producidas por cada espermatocito de segundo orden. El número de cromosomas será, pues, en las dos espermátidas más favorecidas, 6 + X; en las otras dos, seis únicamente. Los espermatozoides producidos difieren, por consiguiente, en que existe el cromosoma X en dos de ellos, mientras que falta en los otros dos.



Esquema 1

El esquema adjunto servirá para fijar bien estas ideas; en él se han representado los dos procesos madurativos: la espermatogénesis (a la izquierda) y la ovogénesis (a la derecha). He figurado solamente cuatro cromosomas y el elemento X pintado en

negro. Como no se refiere a ningún insecto determinado, sino que trata de explicar únicamente lo fundamental del proceso, he representado el cromosoma sexual en un solo espermatocito de segundo órden, suponiendo que la primera mitosis de maduración es la reductora (heterotípica). Las flechas que parten de dos de las espermátidas indican el caso en que la fecundación se verifique por dos espermatozoides que difieran entre sí por la presencia del cromosoma X. Más adelante, al comparar este proceso con la ovogénesis, explicaré esta parte del esquema.

Al tipo *Protenor* pertenecen varios hemípteros *(Pyrrhocoris, Anasa, Chelinidea, Alydus, Harmostes,* etc.), la mayor parte de los ortópteros, con la posible excepción de *Syrbula* (Montgomery, 1905), *Forficula* (Zweiger, 1906; Stevens, 1910) y algunos otros, y ciertos coleópteros *(Diabrotica,* Lampíridos y Elatéridos), (Stevens, 1905-09).

Tipo lygaeus.—Aunque ha sido estudiado por primera vez en este hemíptero, me valdré para su descripción de los resultados obtenidos por Stevens (1905) en *Tenebrio molitor,* perteneciente a la misma familia que el *Blaps.* Al mismo tiempo servirá como término de comparación con lo que sucede en este último insecto.

En la metafase de las mitosis espermatogoniales existen veinte cromosomas de dos tamaños: diez y nueve grandes y aproximadamente iguales y uno esférico más pequeño. En el período de reposo que la precede no hay ningún indicio de nucleolo ni de formación alguna que se pueda considerar como un cromosoma sexual.

En los espermatocitos de primer orden y después de una sinapsis de corta duración, la cromatina se condensa constituyendo un espirema grueso e irregular, segmentado a veces. Un poco antes de la primera división de maduración se pueden observar en ciertos núcleos los cromosomas divididos longitudinalmente, formando tetradas; en la mayor parte de los casos, sin embargo, el espirema irregular se condensa en una banda cromá-

tica segmentada colocada en el núcleo de diversa manera; esta banda se transforma en los cromosomas bivalentes, originando nueve pares simétricos y un par asimétrico constituído por un grueso elemento igual a los restantes (cromosoma X) y el cromosoma más pequeño, llamado por Wilson (1905) primeramente, el pequeño idiocromosoma (1), después el cromosoma Y. En la profase de la primera división, en raros casos, puede observarse la disposición en tetradas; generalmente aparece cada elemento bivalente formando un solo segmento con un estrechamiento transversal en forma que recuerda la de un bizcocho. Durante la metafase, la pareja X Y es la última que se dispone en la placa ecuatorial; el cromosoma Y está dirigido siempre hacia el ecuador del huso. Durante la metacinesis se efectúa la división reductora del siguiente modo: la hendidura transversa de cada cromosoma aumenta y ambas mitades comienzan a separarse dirigiéndose a los polos opuestos del huso, arrastradas por la contracción de las fibras que componen este último. La pareja X Y se disocia en sus componentes, pasando ambos a los polos opuestos del huso, de manera que los espermatocitos de segundo orden así producidos se distinguen entre sí por tener, respectivamente, diez cromosomas iguales (9 + X) y 9 cromosomas + Y. No hay estado de reposo en dichos espermatocitos; el huso acromático se forma a expensas de los restos del primitivo y la masa de cromatina se coloca en su ecuador. Los cromosomas en esta segunda división (homeotípica) se dividen longitudinalmente como en la mitosis somática, produciendo diadas, en las que acaban por separarse los dos elementos que las forman, caminando hacia las dos espermátidas así originadas. El huso acromático en ambas divisiones se caracteriza por tener a su alrededor una densa masa de fibras, que en el material fijado por el ácido ósmico se tiñe intensamente por la hematoxilina.

---

(1) *Small idiochromosome.*

En la mayor parte de las jóvenes espermátidas, después de haberse formado la membrana nuclear, aparece un elemento cromático aislado que corresponde exactamente a los componentes grande o pequeño del par asimétrico (X Y), separado por la primera mitosis de maduración y dividido longitudinalmente en la segunda. La porción hialina del núcleo que contiene este elemento está dirigida al principio hacia el resto fusorial; pero antes de que aparezca la cola del espermatozoide, el núcleo entero o sus componentes han girado 180°. La región hialina y el elemento aislado desaparecen finalmente y la cromatina se disgrega en granos gruesos, después más finos, dentro de la cabeza del espermatozoide. En los últimos estados el centrosoma se distingue claramente en la base de la cabeza.

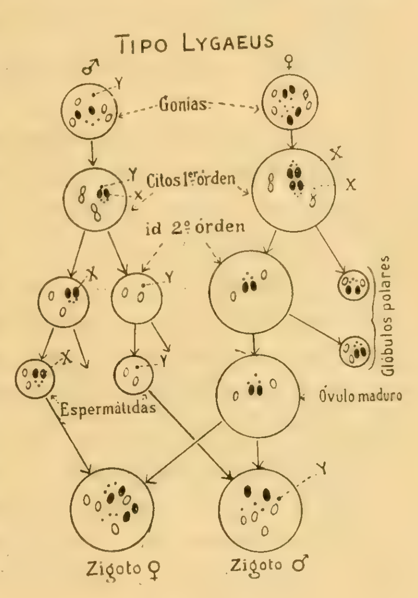
Las espermátidas difieren, por consiguiente, en la cantidad de cromatina que contienen sus núcleos; en dos de ellas existen nueve cromosomas + X, en las otras dos nueve cromosomas + Y. El dimorfismo entre los espermatozoides producidos es tan evidente como en el tipo *Protenor*.

El esquema número 2 indica la marcha del proceso espermatogénetico (a la izquierda) y la ovogénesis (a la derecha) en un insecto perteneciente a este segundo tipo. El elemento X, sin embargo, ha sido dibujado como compuesto de dos partes iguales y tres mucho más pequeñas y a su vez iguales entre sí, para demostrar el comportamiento de dicho cromosoma compuesto a través del período meiótico. Un cromosoma X como el representado, existe en el hemíptero *Acholla multispinosa*. De esta manera el esquema sirve a la vez para el tipo *Lygaeus* y para el caso en que el cromosoma sexual es compuesto.

Wilson explica el paso del tipo *Protenor* al *Lygaeus* del siguiente modo: «Si el cromosoma Y se supone que desaparece, el segundo tipo *(Lygaeus)* es idéntico al primero. Es casi cierto que tal ha sido el origen actual del primer tipo, porque yo he podido demostrar que en diferentes especies de hemípteros existe una serie de gradaciones entre formas en las que el elemen-

to Y es casi tan grande como el X *(Mineus, Nezara hilaris* etc.), y otras en las que Y es muy pequeño *(Lygaeus, Nezara viridula)*. Su desaparición final dejaría a X sin un compañero durante la sinapsis, como un cromosoma impar» (1).

Finalmente, en el tercer tipo, entran, como ya he dicho, todos aquellos casos en que el cromosoma X es doble o múltiple; las partes que le constituyen están completamente separadas en los núcleos diploides; pero en la maduración de los espermatocitos se asocian íntimamente formando un solo grupo que pasa como una unidad a uno de los polos del huso acromático penetrando, por consiguiente, en la mitad de los espermatozoides, como en los casos citados anteriormente. Aun se podrían distinguir aquí dos modalidades, según el cromosoma X vaya acompañado del elemento Y o se presente aislado como en el tipo *Protenor*. Como ejemplo de esta última clase, cita WILSON algunos de los casos mejor estudiados, tales como el hemíptero *Syromastes,* cuyo cromosoma X está formado por dos porciones desiguales (GROSS, 1904, WILSON, 1909, a); *Phylloxera*, en que también existen dos componentes desiguales que en los núcleos diploides se presentan aislados o fundidos en una sola masa, siendo este último caso una excepción a la regla general (MORGAN, 1909). Fuera de los in-



Esquema 2

(1) También llamado *odd chromosome.*

sectos también pueden citarse algunos casos, como por ejemplo, el del hombre (GUYER, 1910) en el cual, el cromosoma X es doble y muy semejante al que existe en *Syromastes*, por estar formado por dos partes desiguales. Entre los arácnidos cita WILSON, el caso de *Agelena* investigado por WALLACE, con cromosoma X doble y formado por dos partes iguales; y, finalmente, entre los nematodos existe un elemento X múltiple en *Ascaris* (EDWARDS, 1910), compuesto nada menos que de cinco partes.

En la primera clase (cromosomas X Y) existen también casos notables. Entre los hemípteros, PAYNE (1909) ha descrito en algunos géneros *(Fitchia, Conorrhinus, Rocconota)* un elemento X, doble, que durante la sindesis se asocia con el Y; WILSON, a su vez, ha estudiado el mismo caso en *Thyanta calceata*. En otros hemípteros existen tres componentes *(Sinea* y *Prionidus)*, cuatro *(Gelastocoris)*; pero el caso más notable es, sin duda alguna, el de *Acholla multispinosa*, cuyo elemento X se compone de cinco partes: dos grandes e iguales y tres muy pequeñas (PAYNE, 1910).

Los casos citados servirán para demostrar que el dimorfismo que existe entre los espermatozoides no es una teoría, sino hechos bien demostrados y con un gran número de pruebas en su favor, obtenidas por la observación cuidadosa de los ejemplos estudiados.

WILSON (1910) ha distinguido claramente la diferencia que entre ambos sexos existe, en lo que se refiere al dimorfismo de los gametos, denominando al sexo macho digamético en oposición a la hembra, que presenta todos sus óvulos iguales, como veremos más adelante, si bien provistos también de cromosomas sexuales y por este hecho debe considerarse como homogamética (1).

(1) La distinción de WILSON se refiere exclusivamente a los animales en que existen cromosomas sexuales; en otros casos, si bien hay un dimorfismo bien patente en los óvulos, se debe a otras causas.

Antes de terminar esta parte citaré el caso notable de ciertos equinodermos, en los que sucede exactamente lo contrario que en los ejemplos expuestos, esto es, que el sexo macho es homogamético, puesto que en los espermatozoides no existen algunos con cromosoma sexual; en cambio, en la ovogénesis han podido descubrirse dichos cromosomas que durante el proceso reductor se reparten desigualmente en los óvulos producidos, originando un dimorfismo entre estos elementos que obliga a considerar al sexo hembra como el digamético.

Baltzer (1909) ha descubierto esta particularidad estudiando los estados de la fecundación en *Strongylocentrotus lividus* y *Echinus microtuberculatus*. Todos los núcleos de los espermatozoides son semejantes, mientras que los de los óvulos son de dos clases: unos que contienen un cromosoma característico, que ha denominado elemento F, que no existe nunca en los núcleos de los espermatozoides y que está reemplazado en la otra clase de óvulo por un cromosoma del tipo ordinario. Los óvulos que contiene el cromosoma F producirán hembras, puesto que este elemento no se encuentra nunca en los espermatozoides. En lo que se refiere a la determinación del sexo, el resultado es el mismo que en los casos citados anteriormente.

2.—Comparación entre la espermatogénesis y la ovogénesis.

La evidencia decisiva, en lo que respecta a la participación de los cromosomas sexuales en la determinación del sexo, o por lo menos su presencia como carácter constante que acompaña siempre a éste, ha sido suministrada por las investigaciones de Miss Stevens y Wilson, que en 1905, independientemente uno de otro, han comparado entre sí el proceso de la espermatogénesis y ovogénesis en los hemípteros y coleópteros. Wilson ha comprobado en los primeros que en el caso de existir un cromosoma X, el núcleo diploide o somático de la hembra presenta

constantemente dos de estos elementos. STEVENS, en el *Tenebrio molitor*, ha demostrado asimismo que si bien el número total de cromosomas es el mismo en los dos sexos, para los cromosomas X Y del macho hay dos X en la hembra. Posteriormente, en 1906, ambos autores han ampliado sus estudios a otros insectos pertenecientes a los dos órdenes citados, obteniendo los mismos resultados.

En el caso citado de *Protenor* no existe la menor duda sobre este punto, puesto que en él el cromosoma X se distingue bien por alcanzar mayor tamaño que los demás en la placa ecuatorial; WILSON (1909 a y d) ha demostrado también que existe la misma relación en *Pyrrhocoris*.

El examen del esquema de la pág. 13, demuestra que en la ovogénesis, de la que he tomado un tipo general sin referirme a ningún insecto determinado, la ovogonia contiene dos cromosomas X representados en negro; después de la sindesis, en el ovocito de primer orden, aparecen ambos formando una pareja; en la primera división de maduración, que considero como la reductora (heterotípica), se separan los dos componentes, pasando uno al ovocito de segundo orden y el otro al primer glóbulo polar. En la segunda división (homeotípica en este caso), el cromosoma X del ovocito de segundo orden se divide longitudinalmente como en la mitosis somática, pasando una de las mitades al segundo glóbulo polar. Por consiguiente, todos los óvulos aptos para la fecundación llevan cromosoma X, en contraposición con los espermatozoides que le poseen a medias.

MORRILL (1910) ha confirmado cuidadosamente estos resultados en la ovogénesis de algunos hemípteros (*Protenor, Anasa, Archimerus, Chelinidea*), encontrando en todos los casos que el comportamiento de los cromosomas X es el mismo.

El exámen del esquema hace comprender la manera de verificarse la fecundación y el resultado obtenido en el zigoto, según sea fecundado por espermatozoides con cromosoma X, o por los que carecen de él. Cuando un óvulo es fecundado por un esper-

matozoide que no lleva este elemento, en el zigoto producido por su conjugación se suman al cromosoma X del óvulo los cromosomas que ambos llevan (reducidos a la mitad en cada uno de los gametos durante el período meiótico), reconstituyéndose el número característico del núcleo diploide del macho (*n* cromosomas + X). En cambio, en el caso de fecundar al óvulo un espermatozoide con cromosoma X, se produce el número de cromosomas que caracterizan al núcleo diploide de la hembra, esto es: *n* cromosomas + XX.

En ambos casos, las células germinativas derivadas de las particiones sucesivas del óvulo fecundado durante la segmentación llevan, como se puede observar, el número de cromosomas correspondiente al sexo del zigoto. El examen de las células somáticas en ciertos embriones de hemípteros, cuyos procesos madurativos son conocidos con exactitud, ha servido para comprobar lo correcto de esta interpretación.

En los insectos pertenecientes al tipo *Lygaeus* hay una doble evidencia de que en la producción de machos o hembras juega un papel importante la clase de espermatozoide que fecunde al óvulo, porque el cromosoma Y, que se distingue perfectamente por su pequeño tamaño, deriva del que lleva el espermatozoide y este cromosoma es característico de los machos. En cambio, si es un espermatozoide con elemento X el que produce la fecundación, se reconstituye el número característico del núcleo diploide en la hembra.

Wilson ha representado estas relaciones mediante sus conocidas fórmulas:

(*a*) En ausencia de un cromosoma Y.
Huevo X + espermatozoide X = zigoto XX (hembra).
Huevo X + espermatozoide *sin X* = zigoto X (macho).

(*b*) En presencia de un cromosoma Y.
Huevo X + espermatozoide X = zigoto XX (hembra).
Huevo X + espermatozoide Y = zigoto XY (macho).

»Es obvio por esto, dice dicho autor, que la condición hem-

bra o macho del zigoto se establecerá según la clase de espermatozoide que penetra en el huevo. La alternativa es suponer que el número y las relaciones de tamaño en los cromosomas del zigoto no tienen ninguna relación con los de los núcleos de los gametos; pero a esto último se opone un conjunto tal de hechos experimentales que le hace improbable en alto grado» (1).

Por último, en los insectos pertenecientes al tercer tipo, ya hemos visto que en las divisiones de maduración el elemento X, compuesto de varias unidades, se conduce como un solo cromosoma. En la hembra existen dos de estos cromosomas compuestos que se pueden distinguir con exactitud en el núcleo diploide de las ovogonias. (Esquema 2, pág. 17).

En los casos citados ha podido estudiarse el proceso madurativo en los dos sexos; pero, en la mayor parte de los insectos investigados solo se conoce la espermatogénesis; de todos modos, por el hecho de ser el sexo macho digamético, hay grandes probabilidades de que en la hembra suceda lo mismo que ha sido descrito en los ejemplos mejor estudiados.

Antes de terminar he de hacer algunas observaciones en lo referente a las diferencias que existen durante el proceso espermatogenético entre los cromosomas sexuales y los cromosomas de tipo ordinario. Si bien el elemento X como el Y en los casos en que existe se distingue generalmente en el período de crecimiento de los espermatocitos de primer orden por su estructura más compacta, forma redondeada y manera de teñirse, si no se puede seguir todo el proceso evolutivo durante el período meiótico y demostrar de manera indudable su comportamiento en la división reductora, no hay motivos suficientes para identificarle con un cromosoma sexual; hacer lo contrario, sin estas pruebas, conduce a menudo a un error de interpretación. De la misma manera, aunque en este período se distingue perfectamente por

(1) 1911 pág. 252.

las propiedades citadas, no hay que pensar en modo alguno que tales propiedades le caracterizan, tratando de identificarle en el núcleo quiescente de las espermatogonias con masas cromáticas que presentan la misma afinidad por los colorantes, ni mucho menos en la placa ecuatorial, fundándose en el aspecto que presentan determinados cromosomas que en ella se encuentran.

En la pág. 11, al hablar de los estudios de PAULMIER y MONTGOMERY, he citado ya la confusión que originó la suposición de estos autores que creían que el elemento X nace de la fusión de dos cromosomas con aspecto de nucleolo, existentes en la placa ecuatorial de las mitosis goniales y que después han sido correctamente interpretados por WILSON. En mi caso, como se verá al hablar del material y los métodos que he empleado, las reacciones colorantes más usadas y que se han considerado como más decisivas, han sido aplicadas obteniendo los resultados citados por otros autores; pero el criterio que me ha servido para interpretarle correctamente no ha sido más que el que suministra todo el proceso de su evolución y su repartición desigual al verificarse la cinesis reductora, aunque sus reacciones colorantes le hubiesen hecho aparecer como un verdadero nucleolo.

Lo mismo ha sucedido en la ovogénesis; los cromosomas sexuales no sólo no se distinguen de los restantes en las ovogonias, sino que, en ciertos casos (*Alydus*, *Euchistus* y algunos otros), ni siquiera aparecen como nucleolos cromatínicos en los ovocitos, resultados confirmados por WILSON (1905-06) y FOOT STROBELL (1909). Es, por consiguiente, necesario prescindir ya por completo de aquellos caracteres que, para la mayor parte de los autores, han sido el modo de distinguir los cromosomas sexuales de los restantes.

«Yo creo probable, dice Wilson, que se encontrarán casos, y quizás en gran número, en los que el dimorfismo sexual entre los gametos exista sólo en un sentido fisiológico, pero que no esté visiblemente expresado en los cromosomas» (1911, pág. 255).

***

Una brillante confirmación de los hechos e ideas expuestos en las páginas que preceden ha sido suministrada por las investigaciones de miss STEVENS, von BAEHR y MORGAN, que en el mismo año (1909) e independientemente unos de otros, han estudiado ambos procesos madurativos en algunos insectos que presentan generaciones partenogenéticas alternando con otras sexuadas, formando un ciclo regular (ciertos Afídidos y *Phylloxera*), descubriendo que los espermatocitos de segundo orden, desprovistos de cromosoma sexual, degeneran *in situ*, sin transformarse en espermatozoides.

En el *Aphis saliceti*, estudiado por von BAEHR y en la *Phylloxera*, por MORGAN, los huevos fecundados producen solamente hembras. En el primero existen en el espermatocito de primer orden dos cromosomas bivalentes y el elemento X; durante la primera mitosis de maduración, los cromosomas bivalentes se separan en cuatro, que pasan por parejas a los dos espermatocitos de segundo orden. El cromosoma X, siguiendo la misma marcha que en el tipo *Protenor*, pasa entero a uno de estos espermatocitos. Se producen, por consiguiente, dos clases de estos últimos, según posean el elemento X o carezcan de él. El espermatocito que no lleva dicho cromosoma, de menor tamaño que el más favorecido, degenera sin sufrir la segunda mitosis madurativa; en cambio, el que le posee se divide como en una cinesis ordinaria y produce finalmente dos espermátidas, provistas, por consiguiente, de cromosoma X.

En el núcleo diploide de la ovogonia existen los dos cromosomas X, que, reuniéndose en una pareja por la sindesis, son separados en la primera división de maduración; en el ovocito de segundo orden se divide longitudinalmente durante la segunda mitosis, de modo que todos los óvulos maduros poseen uno de estos cromosomas sexuales.

Ahora bien, como todos los espermatocitos que carecen de cromosoma sexual han degenerado, no cabe la menor duda de que al verificarse la fecundación sólo penetrarán en el óvulo espermatozoides con cromosoma X, que son los únicos funcionales, y, por consiguiente, el sexo de los zigotos así producidos será siempre hembra, reconstituyéndose el número somático de ésta. Desde hace mucho tiempo se conocía ya esta notable particularidad en los insectos citados.

Los mismos hechos fundamentales se presentan en la *Phylloxera* y en los otros afididos.

También se ha encontrado una explicación citológica del hecho bien conocido de que en dichos insectos los huevos partenogenéticos producen hembras en un caso y en otro machos. Una parte de estos huevos forma un solo glóbulo polar, con el cual se expulsa uno de los dos cromosomas X; en este caso se producen machos. En cambio en otros, ambos cromosomas X permanecen en el huevo, que da lugar a una hembra.



Después de haber expuesto los hechos fundamentales descubiertos en los procesos madurativos de los animales citados, que como Wilson hace notar, no son teorías sino hechos, sólo me resta exponer la interpretación y las consecuencias teóricas que de estos derivan; pero este objetivo si bien de tan alto interés, se sale ya del fin que me he propuesto, esto es, exponer brevemente los hechos citológicos bien demostrados cuyo conocimiento servirá de introducción indispensable para esta Memoria. Puede decirse que en la actualidad un gran número de observaciones y experimentos obligan a tratar esta cuestión simplemente como una forma de la herencia, que sigue las mismas leyes que Mendel hubo de descubrir para la transmisión de los demás caracteres en la especie. Remito al lector al trabajo

de Wilson donde encontrará una discusión más detenida acerca de este punto. Tan sólo me permitiré copiar la opinión de dicho autor acerca del papel que los cromosomas sexuales juegan en la determinación y herencia del sexo:

«It is possible to maintain as some writers have done, that the sex-chromosomes are not a determining cause but only an accompaniement of sex. I do not myself consider them as sex-determinants in any exclusive sense. I do regard them as one link—probably an essential one—in a chain of factors by which sex is determined and inherited; and since they are the most accessible and obvious of these factors, we may for purposes of analysis confine our attention to them.»

SEGUNDA PARTE

Espermatogénesis en el «Blaps lusitanica» Herbst.

I.—Material y métodos.

He estudiado la espermatogénesis en ejemplares adultos procedentes de los alrededores de Madrid, en donde abunda este insecto. El material ha sido recolectado y fijado durante los meses de verano, época en que se encuentran los órganos sexuales en la plenitud de su desarrollo.

Los fijadores que mejores resultados me han dado son los siguientes: mezcla de sublimado-alcohol-ácido acético (LENHOSSEK) y licores de FLEMMING, ZENKER y BOUIN. Con los dos últimos he obtenido las mejores preparaciones. El sublimado contrae bastante las células y esto constituye un obstáculo en la observación de algunos de los fenómenos celulares más interesantes.

Los cortes seriados, de 5 a 10 μ de espesor, pegados al portaobjetos, han sido teñidos casi exclusivamente por la hematoxilina férrica de HEIDENHAIN, precedida de una coloración plásmica mediante el *Lichtgrün* o el rojo de Burdeos. De esta manera, diferenciando en la solución de alumbre de hierro durante más o menos tiempo se logra poner de manifiesto diversas estructuras. La coloración por la hematoxilina férrica sin previo teñido da

también excelentes preparaciones. En cortes de testículos fijados por la mezcla de ZENKER, las mitocondrias de los espermatocitos se tiñen intensamente en negro.

Los demás colorantes empleados han sido, además de otras soluciones de hematoxilina (de MAYER, GRENACHER y EHRLICH), la doble coloración por el violeta de genciana y la safranina, muy usada para diferenciar los heterocromosomas; la mezcla de BIONDI-EHRLICH-HEIDENHAIN, así como la doble coloración de OBST (carmín borácico y verde de metilo), que diferencia bien los nucleolos, tiñendo a la vez la cromatina en rojo.

II.—Estructura del testículo.

Los testículos de *Blaps* están formados por numerosos sacos ciegos o folículos dispuestos radialmente alrededor de una cavidad, origen del vaso deferente. Su tamaño es variable según la época en que se estudien, y su color en fresco, blanco grisáceo. Están colocados en la cavidad abdominal; uno de ellos, el izquierdo, se percibe sobre el tubo digestivo al levantar los tergitos abdominales; el otro testículo está colocado debajo de éste con el resto del aparato genital. Los folículos apretados unos contra otros dejan ver solamente sus extremos distales, más gruesos, que comunican al órgano un aspecto semejante a una mora. Por toda su superficie se distribuyen tráqueas, ramificaciones de gruesos troncos procedentes de los estigmas, que en el extremo ciego de cada uno se resuelven en un plexo apretado (figs. A y 1 *tr.*), penetrando en su interior a través de la pared; también se introducen entre los folículos vecinos ramificándose.

Cada folículo aparece en corte longitudinal como un saco cónico, que desemboca en la cavidad origen del vaso deferente (figura A). En cortes transversales tienen contorno circular o poligonal por compresión mutua. Su pared está formada por un

epitelio en contacto por su cara externa con las células adiposas, elementos de núcleo circular con la cromatina finamente dividida o en gruesos gránulos y citoplasma lleno de grandes vacuolas, gruesas gotas de grasa y bolas de materias nutritivas. El aspecto variado de sus núcleos y citoplasma indica que son asiento de un activo metabolismo, suministrando, probablemente, substancias nutritivas a las células que están albergadas en la cavidad folicular. Las células del epitelio son bajas, de contorno rectangular y citoplasma granuloso, poco vacuolizado, transformándose al parecer en las citadas anteriormente.

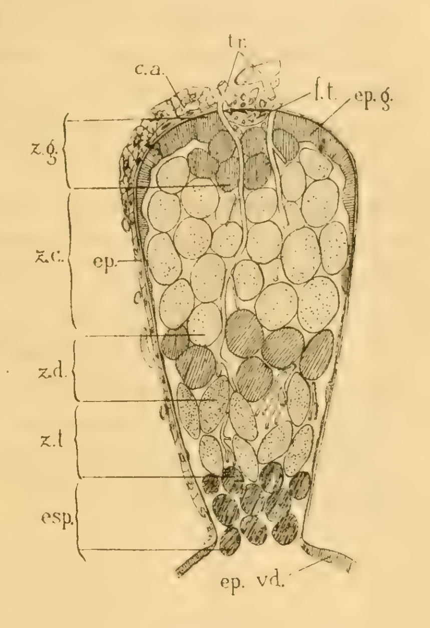


Fig. A

Debajo de esta primera cubierta y en contacto con ella, aunque en los cortes no aparece así a causa de la contracción experimentada durante la preparación, hay una membrana basal engrosada en el centro del fondo de saco, en relación con una formación lenticular, que contiene algunos núcleos esparcidos (figura A y fig. 1, *f. t.*). Esta última estructura me parece semejante a la citada por Demokidoff (1902) en *Tenebrio molitor*, que, a causa de su forma típica la ha denominado *Linse*, siguiendo su evolución a partir de la larva. En la bibliografía anterior a este autor no existe ningún dato sobre ella. Su papel probable es el de un órgano de sostén, representante quizás del extremo ovárico de la hembra.

Las tráqueas que penetran en el interior atraviesan la membrana basal alrededor de la formación citada, que también las

contiene en pequeño número y más finas (fig. A). Junto a las tráqueas y siguiendo su trayecto, hay tabiques formados por el tejido folicular, que irradia a partir de la formación y, además, fascículos formados por fibras musculares estriadas.

En otro trabajo estudiaré con más detalle la estructura de la pared testicular y la formación terminal.

La cavidad folicular, en el testículo en plena actividad, está ocupada por los productos seminales en vías de transformación. Las zonas que comprenden los diversos estados de la espermatogénesis están dispuestas en serie lineal a partir del extremo ciego, en donde reside el epitelio germinativo. Siguiendo la terminología generalmente admitida de LA VALETTE SAINT-GEORGE, las llamaré respectivamente: 1.ª, zona germinativa (fig. A, *z. g.*); 2.ª, zona de crecimiento, *z. c.*; 3.ª, zona de división y de reducción, *z. d.*, y 4.ª, zona de transformación, *z. t.* Todas estas pasan unas a otras insensiblemente, sin que haya límites precisos para poderlas separar. Su extensión es variable para cada testículo; generalmente, la de crecimiento formada por los espermatocitos es la más extensa.

EPITELIO GERMINATIVO

Ocupa una región bien definida y de extensión constante en todos los folículos observados. Está colocado en íntimo contacto con la membrana propia, producida seguramente como una diferenciación suya; adosado a su superficie interna constituye un casquete esférico interrumpido en el centro por la formación terminal, cuya cara más convexa es libre en la cavidad (figs. A y 1 *ep. g.*). Por su porción más periférica disminuye paulatinamente de espesor hasta quedar convertido en una membrana delgada, engrosada en algunos puntos por la presencia de espermatogonias primarias y cistos producidos por la división de estas últimas, pasando progresivamente al epitelio del vaso deferente formado por elementos cilíndricos y ciliados.

En la profundidad del epitelio y en contacto con la basal del folículo residen las células genitales primordiales (1) que nacen en la larva a consecuencia de particiones sucesivas de las células germinativas embrionarias. Son de pequeño tamaño, contorno irregular y citoplasma escaso, provistas de un núcleo esférico u oval, con la cromatina en forma de finos gránulos suspendidos en el retículo de linina. Estas células que probablemente se transforman también en las del tejido folicular, aunque no puedo asegurar esto con certeza, se convierten en espermatogonias primarias, elementos aislados de mayor tamaño y contorno circular o elíptico. Las espermatogonias primarias producen por divisiones sucesivas y rápidas las secundarias, que constituyen rosetas rodeadas completamente por el tejido folicular, formando espermatocistos; cuando estos últimos abandonan el epitelio caen en la cavidad del folículo, en donde las células que les ocupan sufren todas las transformaciones hasta llegar a convertirse en espermatozoides, caminando hacia el vaso deferente empujados por la producción de nuevos cistos en el epitelio germinativo.

En algunos casos he podido observar que la transformación en espermatozoides se verifica *in situ*, sin abandonar el epitelio, que aparece ocupado en algunos puntos por masas de estos elementos ya maduros, que seguramente degeneran en la mayor parte de los casos, no pudiendo seguir su camino hacia el exterior al estar obstruída la cavidad por cistos que contienen células en fases más tempranas de la espermatogénesis. En la región periférica del epitelio degeneran asimismo casi todas las espermatogonias secundarias comprimidas por los elementos que llenan el interior del folículo; el término de este proceso le constituyen masas esféricas con gruesos granos cromáticos redondos que producen finalmente bolas nutritivas que aprovechan para su alimentación otras células más favorecidas.

---

(1) *Urspermatogonien* de los autores alemanes.

El aspecto del tejido folicular varía en los diversos cistos, según la fase en que se encuentran las células que los ocupan; la estructura variable de sus núcleos indica el papel importante que aquel tejido juega en la nutrición de los productos seminales.

Las tráqueas recorren toda la cavidad folicular terminándose por finas ramificaciones en la porción proximal de ésta, alrededor de los espermatozoides maduros.

III.—Las espermatogonias y la mitosis somática.

La zona germinativa comprende el epitelio del mismo nombre y las espermatogonias, ocupando la región terminal de los folículos; el primero ha sido descrito anteriormente al hablar de la estructura del testículo (pág. 30); está formado, como hemos visto, por las células genitales primordiales y las espermatogonias que derivan de ellas, abundando más estas últimas, que permaneciendo aisladas (espermatogonias primarias) o formando cistos (espermatogonias secundarias) caen finalmente en la cavidad folicular y pasan por un período de crecimiento, dividiéndose repetidas veces y en un corto intervalo de tiempo para convertirse por último en elementos de menor tamaño (espermatocitos de primer orden), que después de un largo crecimiento sufren las mitosis de maduración y se transforman en espermátidas.

ESPERMATOGONIAS PRIMARIAS

Estos elementos residen en el epitelio, más o menos próximos a la membrana propia del folículo (fig. 1, *es. 1*). Son células esféricas u ovales, con el núcleo algo excéntrico, de contorno circular o elíptico, que llega a alcanzar un diámetro de 12 μ. La figura 2 representa una muy aumentada en contacto con la basal *(m. b.)*, rodeada por el tejido folicular y una célula genital pri-

mitiva *(g.)*, que comienza su período de crecimiento para convertirse en una espermatogonia primaria.

El citoplasma está ocupado por finos microsomas dispuestos en un retículo; sobre esta base destacan otros gránulos más gruesos que se tiñen con mayor intensidad que el resto, por la eosina, *Lichtgrün*, etc.; están en la mayor parte de los casos colocados en serie lineal y me parecen corresponder a mitocondrias dispuestas en condriomitos, que en el *Blaps* han sido estudiados con ayuda de métodos especiales por Benda (1902) y Duesberg (1910). Esparcidos por el citoplasma y en pequeño número, se observan unos corpúsculos esféricos que atraen intensamente la hematoxilina férrica y están rodeados por una zona hialina bien manifiesta. En ciertos casos, en las espermatogonias secundarias donde también existen, he podido observar signos evidentes de su división, permaneciendo durante algún tiempo las mitades así originadas, unidas entre sí por medio de un filamento. En la figura 2 se ven dos de estos corpúsculos colocados muy próximos y rodeados por una misma zona hialina. El estudio de su evolución y significación morfológica se sale de los límites que me he impuesto en el presente trabajo; probablemente representan a los llamados *Chromatoid Körper* por los autores.

Colocado junto a la membrana nuclear y rodeado por una zona homogénea o finamente granulosa, más intensamente teñida que el resto del citoplasma, se encuentra el centrosoma *(c.)*, el cual aparece como un diminuto gránulo negro.

El núcleo posee una membrana bien manifiesta y su interior está ocupado por un retículo de linina, más abundante en la periferia del mismo que en el centro. En la figura está representado en corte óptico, observándose junto a la membrana masas irregulares de cromatina. Su interior está atravesado por gruesos filamentos de linina que llevan adheridos granitos cromáticos esparcidos y dos nucleolos iguales, de contorno circular y colocados en contacto. El aspecto del núcleo indica que se encuentra en la profase temprana; durante el período de reposo son difíci-

les de encontrar, probablemente porque este estado es de corta duración. En otros casos no existe nucleolo alguno.

En las células foliculares la cromatina se presenta en forma de granos gruesos y regulares colocados especialmente en la periferia, junto a la membrana nuclear.

En la célula germinativa (*g.*), la cromatina constituye masas lirregulares unidas entre sí por algunos filamentos de linina. Al lado del núcleo y en contacto con su membrana, se observa el centrosoma y la esfera. El citoplasma de esta célula y el de las foliculares parece formar un *syncitium* con los núcleos esparcidos, sin que haya podido observar límites celulares que lo separen. El espacio que existe entre la espermatogonia y las células foliculares es, seguramente, un artificio de preparación.

Las espermatogonias primarias abundan poco en el epitelio germinativo, ocupado en su mayor parte por cistos de espermatogonias secundarias (fig. 1, *es. 2*), originados por las divisiones sucesivas de aquéllas. Se dividen por mitosis; todas las fases observadas son en un todo semejantes a las que aparecen durante el proceso de división de las espermatogonias secundarias; y como en estas últimas el estudio es más fácil por encontrarse todos los elementos de un mismo cisto en estados muy próximos, he preferido dejar su descripción para cuando trate de ellas.

ESPERMATOGONIAS SECUNDARIAS

En los espermatocistos o simplemente cistos, las espermatogonias secundarias están agrupadas alrededor de un punto que ocupa su región central, formando rosetas de nueve a doce células más o menos esféricas u ovales (fig. 1, *es. 2*). Cada una de las espermatogonias que las constituyen tiene aproximadamente forma cónica, con su extremo más estrecho y aguzado dirigido hacia el centro del cisto y el otro extremo más grueso, redondeado, ocupando la periferia del mismo; en el centro están en contacto los extremos celulares y a veces puede comprobarse bien

la existencia de puentes que reúnen entre sí los elementos vecinos; en cortes tangenciales a la pared del cisto y durante el estado de reposo y fases mitósicas, en las que alcanzan las espermatogonias el máximum de su tamaño, aparecen con contorno poligonal debido a la compresión mutua que ejercen; en estos cortes no se percibe la disposición en rosetas, sino más bien parece tratarse de una masa compacta de células; pero en cortes seriados puede comprobarse la disposición típica.

No he podido encontrar en los cistos que he examinado ninguna célula central comparable a la descrita en otros insectos (en *Pyrrhocoris*, por HENKING; en *Locusta*, por OTTE, etc.), y creo, por consiguiente, que este elemento no existe en *Blaps*.

Las espermatogonias secundarias que residen en el epitelio germinativo son de pequeño tamaño, midiendo su núcleo unas 6 a 7 μ de diámetro. Al caer en la cavidad folicular empujadas por la producción de nuevos cistos, pasan por un período de crecimiento que alcanza su máximo durante la profase, en la que llegan a medir 22 μ en su mayor dirección, correspondiendo al núcleo 11,5 a 12 μ.

Al describir la estructura de las espermatogonias secundarias y la mitosis somática, me ha parecido conveniente seguir el mismo orden en la exposición de la materia que la mayor parte de los investigadores modernos, esto es, comenzar por la anafase estudiando la reconstitución del núcleo hijo (telofase) y el período de reposo que la sigue para llegar al punto de partida, a través de las transformaciones que experimenta la cromatina en el curso de la mitosis. Solamente de este modo se puede decidir algo cierto sobre el valor morfológico de los cromosomas en la metafase.

Las espermatogonias secundarias de *Blaps* son un objeto favorable para el estudio de la mitosis somática por la claridad de las imágenes obtenidas, como demuestran las figuras 3 a 13, cuidadosamente dibujadas mediante la cámara clara y en las mejores condiciones ópticas posibles. (Apocr. 2 mm. ZEISS, ocul.

comp. 18, con la luz de la lámpara Nernst.) La telofase, sin embargo, es muy difícil de analizar completamente a causa de la pequeñez de los cromosomas.

Anafase.

La anafase es de corta duración, a juzgar por lo poco frecuente que es encontrar células en este estado; la mayor parte están en la metafase y telofase, así como en los estados anteriores a la primera. Sin embargo, he podido estudiar perfectamente algunas de estas figuras a partir del momento en que aparece la hendidura longitudinal en los cromosomas hasta la completa separación de las mitades así formadas.

Los cromosomas, en la placa ecuatorial, aparecen colocados en un mismo plano y son de tamaño diverso. En todas las placas estudiadas (más de veinte) su número es de 35 (figs. 8 y B). Entre ellos destacan tres por su mayor longitud y grosor, dos de los cuales son de la misma forma y tamaño; el tercero más robusto y largo, corresponde al cromosoma accesorio o cromosoma X, como demuestra toda su historia a través del período meiótico. Los restantes cromosomas se distinguen también entre sí por su tamaño, si bien la diferencia que entre ellos existe no es tan considerable. Al hablar de la metafase los estudiaré con más detenimiento. Por el momento, no hago más que señalar esta particularidad que influye notablemente en la duración de la metacinesis para cada cromosoma, realizándose el fenómeno sin sincronismo. Cuando los cromosomas pequeños han terminado su división y se separan hacia los polos del huso, aun están dividiéndose los grandes (1).

Cada cromosoma se inserta en las fibras del huso por uno de

1) Para mayor comodidad de exposición, designaré á los dos cromosomas grandes, respectivamente, *a* y *b*.

sus extremos, comenzando por ese mismo punto la separación de los cromosomas hijos arrastrados por la contracción de las fibras. Los cromosomas *a* y *b* y el X adoptan la forma de V, empezando a separarse las dos mitades en que se han dividido, por el vértice de la misma, lo que origina aspectos como los representados en la fig. 9, en la que aparecen unidos todavía por sus extremos distales, permaneciendo así durante algún tiempo y separándose finalmente. En la misma figura se puede observar con claridad la perfecta correspondencia en tamaño y forma entre los cromosomas hijos, colocados unos en frente de otros y unidos entre sí por una fina fibra de conexión (1). En mis preparaciones, gracias a las diferencias que entre ellos existen, no cabe la menor confusión respecto a este punto.

He podido seguir toda la marcha de la división en los elementos *a*, *b* y X, que se prestan perfectamente a este estudio a causa de su mayor tamaño. En los restantes cromosomas acaece el proceso de la misma manera, correspondiéndose sus mitades respectivas hasta tal punto, que en un caso en que he encontrado en uno de los cromosomas hijos una división transversa, la misma división podía observarse en el otro, lo que prueba que el cromosoma indiviso, en la metafase, la presentaba también. Sin embargo, no se puede estudiar tan fácilmente la división a causa de su pequeño tamaño, verificándose ésta con gran rapidez.

Respecto a las restantes estructuras celulares, consignaré algunas observaciones. Resalta bien la regularidad del huso, cuyas fibras bastante gruesas, van a insertarse cada una sobre un cromosoma. Las radiaciones del aster son poco numerosas, rectas, presentando una apariencia ligeramente granulosa como si estuvieran formadas por numerosos y finos gránulos dispuestos en serie lineal.

---

(1) *Connecting-fibres*, llámadas también fibras interzonales cuando existe un huso central.

El centrosoma aparece como un diminuto gránulo teñido en gris verdoso o negro; a su alrededor se observa en muchos casos una zona hialina, estrecha, de la que parten las radiaciones del aster. La esfera atractiva no aparece claramente distinta.

El citoplasma aparece como un retículo de anchas mallas formadas por finos gránulos; esparcidos en él se observan condriomitos y escasos granos intensamente teñidos, rodeados de su zona hialina, bien manifiesta, semejantes a los descritos en las espermatogonias primarias. A menudo se observan también restos de la membrana nuclear, que aun persiste casi en su totalidad cuando las fibras del huso han atravesado ya el núcleo.

El mitosoma aparece, en muchos casos, sufriendo un proceso de desintegración en el seno del citoplasma, esparciéndose los gránulos formados hasta desaparecer finalmente.

La fig. 10 representa el final de la anafase; los cromosomas, durante su ascensión a los polos opuestos del huso se han alargado bastante separándose la cromatina en masas o gránulos dispuestos en serie lineal; esto último puede apreciarse particularmente en los grandes. Las fibras de conexión que unen entre sí las parejas de cromosomas hijos que residen en los polos opuestos del huso han engrosado y aparecen más distintas; su trayecto se ha hecho sinuoso. Finalmente, al terminar la anafase, la cromatina pierde progresivamente su avidez por la hematoxilina férrica, entrando en el período de reconstitución nuclear.

Telofase.

Mis observaciones sobre este importante estado de la evolución nuclear son muy defectuosas a causa del reducido tamaño de los cromosomas y escaso volumen del núcleo hijo. Sin pretender, por consiguiente, dar una historia detallada de proceso tan interesante, consignaré los principales estados observados.

En la fig. 11 puede verse el comienzo de la reconstitución

nuclear. Los cromosomas han perdido su avidez por la hematoxilina férrica, resistiendo poco a la diferenciación y quedando teñidos en verde por el *Lichtgrün*. Su grosor ha aumentado considerablemente, lo que puede explicarse por un hinchamiento de la cromatina; al mismo tiempo, su desintegración en gruesos granos, que comenzó ya en la anafase final, ha progresado considerablemente. Por el momento, no puedo asegurar si ha habido movimientos en los cromosomas que los conducirían a disponerse en serie lineal, originando de este modo bandas cromáticas compuestas de granos y dispuestas paralelamente al eje del primitivo huso acromático. Cada cromosoma ha perdido su continuidad con las fibras de conexión, presentándose su conjunto incluído en una zona hialina que formará ulteriormente el jugo nuclear. El centrosoma, que en la anafase final no se puede descubrir por estar rodeado por los cromosomas, se separa aquí del complejo cromático y emigra en el citoplasma, relacionado aún con escasas radiaciones del aster.

Las fibras de conexión, empujadas por la membrana celular naciente que separa las dos células formadas, se agrupan en una figura cilíndrica que destaca bien sobre el citoplasma ambiente; las situadas en la periferia son particularmente visibles. Cada fibra, al pasar a través de la membrana celular, aparece engrosada, constituyendo los granos así originados una placa intermediaria (1) poco manifiesta. El mitosoma de la división anterior ha desaparecido casi por completo. La estructura del citoplasma no difiere en nada de las otras fases.

En un estado más avanzado, el área hialina que rodea los cromosomas ha aumentado de volumen y la membrana celular se ha formado por completo; los cromosomas más largos la empujan y pliegan en el polo opuesto al que ocupaba el centrosoma, apareciendo como evaginaciones del núcleo naciente. Al mismo

---

(1) *Zwischenplatte* de los autores alemanes.

tiempo, la mayor parte de las mitocondrias y probablemente también el centrosoma, se han colocado entre el núcleo y las fibras del huso, formando en el extremo de este último una masa difusa más intensamente teñida que el resto del citoplasma (figura 12).

El núcleo va aumentando progresivamente de volumen a causa de la mayor cantidad de jugo en él acumulado, y acaba por tomar la forma esférica. Al mismo tiempo, el resto fusorial sufre varios cambios interesantes; sus fibras se hacen más distintas y se acortan considerablemente tomando el conjunto la figura de un huso bien manifiesto, que se distingue en seguida por su mayor refrigencia y por tomar con avidez el *Lichtgrün*, estableciendo la unión entre las células hijas. Pronto comienzan éstas a hacerse cónicas a medida que aumenta el tamaño nuclear, permaneciendo unidas entre sí por el resto fusorial que pierde finalmente su apariencia fibrosa para constituir el mitosoma; en algunos casos permanecen así relacionadas durante largo tiempo; en la mayor parte de ellos acaban por perder toda relación que no sea la de contacto por sus extremos puntiagudos.

Las transformaciones que la cromatina experimenta no son fáciles de seguir; el proceso de vacuolización de los cromosomas, de que hablan muchos autores, aquí no es bien manifiesto o no existe en realidad y parece estar sustituído por la separación de los gránulos cromáticos de cada cromosoma, formándose el retículo aparentemente irregular del núcleo quiescente por la aparición de numerosas anastomosis.

Interfase.

Siguiendo la nomenclatura de LUNDEGARDH, aplico este nombre al período de reposo de las espermatogonias. Durante éste, dichos elementos tienen forma cónica y su polaridad está bien manifiesta; en el extremo más grueso de la célula está alojado el

núcleo de contorno circular o elíptico; el extremo más agudo está ocupado por el mitosoma, que se tiñe más intensamente que las restantes estructuras citoplásmicas cuando se tratan los cortes por los colorantes plásmicos (fig. 3, *f.*). El citoplasma es relativamente poco abundante con relación al núcleo; aparece finamente granuloso y rodeado de una membrana celular bien manifiesta; los microsomas forman, probablemente, un retículo de mallas apretadas; pero su condensación en este estado impide reconocer con claridad este carácter que, como hemos visto en las otras fases descritas, es bien claro y evidente. Sobre esta base destacan algunos gránulos más gruesos y las mitocondrias, que aisladas o dispuestas en condriomitos están concentradas particularmente alrededor del núcleo, que aparece cuando se observa con medianos aumentos rodeado de una zona más obscura que el resto del citoplasma.

En el extremo más agudo de la célula, el mitosoma ocupa una extensión variable para cada espermatogonia; es homogéneo o finamente granuloso, y de contorno irregular en su porción más cercana al núcleo, de la que parten algunas estrías radiantes más abundantes y pronunciadas en la periferia, junto a la membrana celular. Representa esta formación, como hemos visto ya (página 40), el resto del huso acromático que persiste uniendo las células hijas durante la telofase y constituye, a veces, un puente intercelular entre los elementos vecinos. Las estrías que de él parten son, tal vez, restos de la porción más periférica del huso (Voinov, 1903). Ha sido considerada por muchos autores como el *Nebenkern*; pero Meves (1900) ha dado una definición más exacta de esta formación, que alcanza su mayor desarrollo en las espermátidas. Platner la ha llamado mitosoma, cuyo nombre he adoptado en la presente descripción.

Aplicado contra la membrana celular, existe un centrosoma bajo la forma de un diminuto gránulo intensamente teñido en negro por la hematoxilina férrica, rodeado por una zona obscura, compacta o finamente granulosa, que representa el material de la

esfera. En la mayor parte de los casos es difícil de poner en evidencia.

El citoplasma también ostenta a veces algunas vacuolas. Diseminados en él y colocados especialmente entre el núcleo y el mitosoma existen algunos gránulos más gruesos, rodeados por su correspondiente zona hialina y teñidos en negro, que se pueden identificar por su aspecto con los citados anteriormente al hablar de las fases mitósicas.

El núcleo quiescente está ocupado por un retículo aparentemente irregular, compuesto de gránulos de cromatina depositados a lo largo de los filamentos de linina. En algunas de sus partes la cantidad de gránulos cromáticos es mayor, pero nunca son tan abundantes ni están tan condensados que lleguen a formar nucleolos cromatínicos o cariosomas. Algunas veces, he podido comprobar la existencia de un nucleolo verdadero que se identifica fácilmente por su forma esférica y contorno regular; su posición, en los casos en que se presenta, es variable; generalmente está colocado cerca del centro, otras veces muy próximo a la membrana. En una sola célula he podido observar uno de estos nucleolos fuera del núcleo, en contacto con su membrana; como no he vuelto a encontrar otro caso semejante, creo que se debe interpretar como un accidente producido por la navaja al practicar la sección. Wilcox (1895) en *Cicada tibicen*, ha descrito un proceso de expulsión del nucleolo en los espermatocitos; el elemento por él descrito, se tiñe en rojo por la safranina y según las observaciones de este autor, se divide en dos al abandonar el núcleo. Wilcox consideraba a estas mitades así formadas como los centrosomas que serían producidos de este modo por el nucleolo. Estudios posteriores han venido a demostrar lo erróneo de esta afirmación, puesto que se ha comprobado la coexistencia de ambos órganos en la célula en reposo. Las observaciones de este autor sobre esta cuestión tienen un interés puramente histórico; el nucleolo cromatínico, figurado en los espermatocitos es, probablemente, un cromosoma sexual.

En la fig. 3 puede verse un pequeño nucleolo alojado en el retículo cromático y próximo a la membrana. Desaparece durante la profase, sin que haya podido determinar su suerte ulterior.

Volviendo al retículo nuclear, insistiré particularmente sobre un punto muy interesante y que ha sido objeto de atención detenida en los últimos años. El retículo aparentemente irregular, presenta sin embargo, una cierta regularidad, distinguiéndose en él bandas formadas por los gránulos cromáticos, orientadas con un paralelismo más o menos manifiesto y unidas entre sí por medio de anastomosis. El examen del núcleo de las espermatogonias pertenecientes a generaciones ulteriores, lleva al ánimo la convicción de que los cromosomas persisten como tales unidades, desintegrados en gránulos, a través de toda la interfase. En la fig. 13, que representa un núcleo de esta generación espermatogonial al comenzar la profase, se puede comprobar este punto.

Sin embargo, aquí, por las razones alegadas anteriormente al hablar de la telofase, no se puede demostrar esto con exactitud como en otros casos bien estudiados. Una prueba indirecta de que esto sucede es la que suministra el examen de las placas ecuatoriales en las varias generaciones de espermatogonias, pudiéndose reconocer en todas ellas idénticos cromosomas y aun la misma disposición fundamental en los mismos. Para un partidario de la teoría que supone que estos últimos se desintegran totalmente en el núcleo quiescente, desapareciendo como tales unidades, y que después, durante la profase, todo el material cromático vuelve a concentrarse formando un filamento continuo que se divide en los cromosomas característicos de la especie, sería difícil, en mi sentir, explicar qué causas pueden influir en que ciertos de estos elementos (tres en nuestro caso) se presenten siempre con su tamaño y forma constantes. Por otra parte, los numerosos estudios que se han hecho sobre la cuestión y cabalmente los más modernos, se inclinan a favor de la teoría que supone su persistencia a través de la interfase.

Durante todo el período de reposo no puede hallarse en el núcleo indicio alguno de la existencia del cromosoma X, que se reconoce como tal elemento solamente en la placa ecuatorial y después de asegurarse de su evolución ulterior. La cromatina, que ha perdido en las preparaciones por la hematoxilina férrica-*Lichtgrün* toda su afinidad por el primer colorante, tiñéndose en verde por este último, aparece finamente dividida y homogénea en todo el retículo.

Son raros los núcleos en este estado; la mayor parte de ellos se encuentra en la profase temprana y en los estados ulteriores de la cinesis.

Profase.

El primer indicio de este estado es la acumulación del material cromático en algunos sitios del retículo nuclear, especialmente en la periferia del núcleo, en donde constituye masas bien definidas formadas por la reunión y fusión de los gránulos. La cromatina que constituye las bandas más o menos alveolizadas y distintas, se precipita paulatinamente sobre ciertos puntos constituyendo masas de granos irregulares colocados en serie lineal. Los cromosomas que nacen de esta manera están reunidos entre sí por anastomosis; la linina, que ocupa el centro del núcleo, parece condensarse en gránulos que no toman la hematoxilina o se tiñen muy débilmente.

Un rasgo característico en la mayor parte de los núcleos observados, es la diferenciación precoz de una masa de gruesos gránulos que atraen con avidez la laca férrica y constituyen un cromosoma bien individualizado antes que los demás sean distintos. El estudio cuidadoso de todo el proceso no deja la menor duda de que se trata del cromosoma X, que se distingue únicamente en este carácter de los restantes que forman la placa ecuatorial. La figura 4 representa un núcleo de una espermatogonia secundaria

durante la profase temprana; destaca bien sobre el resto de la cromatina el elemento citado.

En la fig. 5 puede verse un estado más avanzado de la profase. Los cromosomas se distinguen ya claramente, y sus contornos primitivamente irregulares a causa de los granos desiguales que los integraban, tienden a regularizarse más; entre los tres cromosomas grandes se podía apreciar bien en este núcleo el elemento X, más grueso y de contorno más regular. En otros núcleos estudiados, sin embargo, esta diferencia no era tan manifiesta.

En este estado los centrosomas se han dividido ya; en algunas espermatogonias estudiadas aparecían unidos entre sí por una centrodesmosis; pero no se apreciaba la existencia de un huso central.

No se ve hendidura longitudinal alguna en los cromosomas, que podría reconocerse por la presencia de una doble serie de gránulos dispuestos paralelamente.

Tampoco existe un espirema continuo; los cromosomas se diferencian *in situ*, sin adquirir relaciones unos con otros, sin que haya contacto ni mucho menos paralelismo, como algún autor pretende.

La fig. 6 representa el comienzo de la formación del huso y el final de la profase. Los cromosomas, bien patentes, con sus contornos lisos y definidos, se distinguen perfectamente entre sí. Están diseminados por el interior del núcleo sin orden aparente y han sido dibujados tan sólo aquellos que se encuentran en dos planos sucesivos. De la misma manera que en el estado precedente, no se puede observar en ellos la existencia de una hendidura longitudinal.

Los centrosomas ocupan los extremos de un diámetro nuclear y emiten las radiaciones del aster, más abundantes y finas que en estados ulteriores. Cada centrosoma parece rodeado de una mínima zona hialina incluída en una substancia homogénea y más teñida que el resto del citoplasma. La membrana nuclear perma-

nece intacta, sin que se pueda demostrar su disolución o plegamiento en la proximidad del centrosoma.

En el interior del núcleo, y a expensas del retículo de linina, se constituye el huso acromático. En ambos polos nucleares, en contacto con los centrosomas, son bien visibles los filamentos que irradian a partir de cada uno de ellos, insertándose sus extremos libres sobre los cromosomas más cercanos. La naturaleza finamente granulosa de estos filamentos es indicio, a mi parecer, de su modo de origen. El resto de la linina nuclear existe en forma de finos gránulos y algunas masas más grandes, dispuestas en trabéculas más o menos pronunciadas o en un retículo de mallas irregulares, lo que indica un proceso de fusión íntima de dichos gránulos para dar, finalmente, las fibras del huso.

En apoyo de esta interpretación está el hecho significativo de la ausencia completa de huso central *(Centralspindle)*, que no existe al separarse los centrosomas hijos a raíz de su división. Uno de los centrosomas emigra a través del citoplasma, siguiendo el contorno del núcleo hasta tomar una posición diametralmente opuesta al otro; esta excursión se prolonga durante toda la profase y al final de ésta es cuando permaneciendo en su posición definitiva, comienzan a aparecer las estructuras representadas en la figura.

Como se comprenderá fácilmente, en este ejemplo es imposible hablar de un huso central y de fibras periféricas *(Mantlefibres)*. Wilson (1904) hace notar que es probable que aun en este caso las fibras del huso sean de dos clases: «unas continuas, que forman las fibras interzonales visibles durante las anafases, y otras medias fibras *(half-spindle fibres)* que se extienden solamente desde los polos a los cromosomas».

«Es posible, añade este autor, que estas dos clases de fibras aunque teniendo el mismo origen, correspondan respectivamente, en función a las del huso central y a las *mantle fibres*. Parece probable que la diferencia entre los dos tipos de formación del huso sea debida, o esté ligada al hecho, de que la transformación

nuclear se verifique relativamente más temprano en el primer tipo (1). Cuando el núcleo existe como tal después de la formación del huso, los centrosomas toman su posición prematuramente, desapareciendo el huso central para dejar paso al núcleo» (página 81).

Al constituirse el huso definitivamente, insertándose sus filamentos sobre cada uno de los cromosomas, éstos se agrupan en el centro del núcleo formando una masa apretada en la que aparecen perfectamente independientes, como me he podido asegurar en varias células estudiadas y, finalmente, comienzan a separarse unos de otros colocándose en un mismo plano para constituir la placa ecuatorial. Durante este tiempo la membrana nuclear permanece intacta, pero cuando la placa se constituye definitivamente comienza su disolución en algunos puntos, permaneciendo durante largo tiempo más o menos completa, alrededor de la figura mitósica (fig. 8).

Metafase.

Las espermatogonias en este estado son muy abundantes, lo que hace suponer que el período es de gran duración. Sin embargo, a pesar de su abundancia, no es siempre fácil contar los cromosomas que componen la placa ecuatorial, por estar en la mayor parte de ellas, formando grupos y en contacto las más de las veces. Los cromosomas se encuentran todos ellos contenidos en un mismo plano y esta particularidad es muy favorable para su comparación entre sí.

El número contado en más de veinte placas estudiadas es de 35 (34 cromosomas ordinarios y el cromosoma X). Las figuras 8 y B representan la misma placa ecuatorial, en la que los

(1) Formación de un huso central entre los dos centrosomas hijos que acaban de originarse por la división del centrosoma único.

cromosomas aislados entre sí pueden compararse perfectamente. Salta a la vista en seguida la diferencia de tamaño y forma de los elementos que la constituyen. De los cromosomas X, *a* y *b*, he hablado ya al tratar de la anafase (pág. 36). Los restantes, en número de 32, se corresponden dos a dos en la placa dibujada, si bien no forman parejas en las que dichos elementos se encuentren colocados próximamente; dichas parejas (fig. B) han sido señaladas con letras; las B, C, D, E, H, J, K, L, M, están formadas por cromosomas más o menos aislados entre sí; pero en cambio, las dos designadas con las letras F y G, que en realidad son cuatro, presentan la particularidad de estar formadas cada una de ellas por dos elementos de tamaño desigual y colocados casi en contacto. En los restantes cromosomas no puede apreciarse bien esta relación y esto puede depender, en parte, de la posición del cromosoma, que al ser visto de una manera distinta, cambia de forma, apareciendo también de diverso tamaño. Todos ellos son de forma oval o elíptica más o menos pronunciada. En otras placas estudiadas también se puede reconocer más o menos claramente la disposición citada.

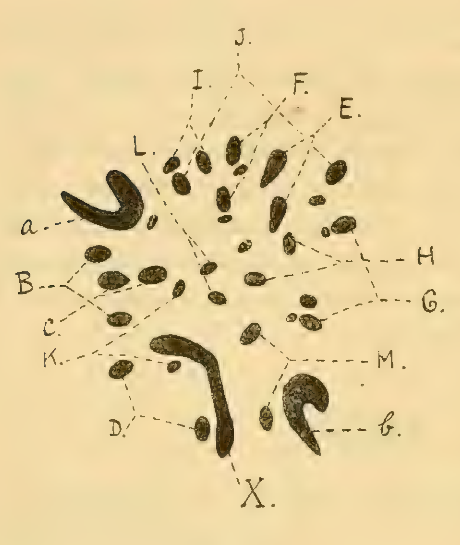


Fig. B

En otros insectos, particularmente en los ortópteros (Sutton (1900-02), Davis (1908), Montgomery (1905), la disposición de los cromosomas por parejas en la placa ecuatorial, es tan clara y evidente y sus diferencias de tamaño y forma tan considerables,

que no puede dudarse de que se trata de un hecho real y bien comprobado. Los elementos que constituyen cada pareja se unen entre sí durante la sindesis; en las estrellas hijas de los espermatocitos de primer orden, se encuentran, por consiguiente, la mitad de estos elementos que se corresponden exactamente en su forma y tamaño, excepción hecha del cromosoma X que por ser único y permanecer aislado durante la sindesis pasa entero a uno de los polos. Si los hechos ocurrieran de otro modo, habría que admitir una desigualdad en la repartición cuantitativa de la cromatina. Además, en los cromosomas de la placa ecuatorial, existe en estos insectos, una serie de gradaciones entre los más desarrollados y los de menor tamaño.

En otras placas estudiadas he encontrado solamente 33 cromosomas.

Algunos autores (Montgomery (1905), en *Syrbula;* Zweiger (1906), en *Forficula auricularia;* Otte (1907), en *Locusta viridissima)* han comprobado esta variación en el número de cromosomas para una misma especie. Fácil es ver la contradicción entre estos hechos y la idea corriente y aceptada por casi todos los autores, que supone que para cada especie el número de cromosomas es característico y constante. Sin embargo, ante observaciones tan concienzudas como las de los autores citados, no puede dudarse de este hecho. Dichos autores explican de diverso modo esta particularidad.

Montgomery, por ejemplo, dice a este propósito: «I cannot determine whether this is due to Syrbula acuticornis being a form including more than one species, or whether it is a single species with individual variation in the number of the chromosomes; the latter alternative would be in contradiction to the condition maintaining in most species» (pág. 164).

Zweiger ha encontrado una variación más considerable; en la mayor parte de los individuos estudiados ha contado 26 cromosomas; en un ejemplar faltaba en todo un cisto la pareja des-

igual XY de cromosomas sexuales (1) y el número era de 24; en los espermatocitos de primer orden había, por consiguiente, 12 parejas de cromosomas. En otros espermatocitos, en cambio, ha podido comprobar la existencia de 14 parejas, que corresponderían a 28 cromosomas en la espermatogonia, y estas células presentaban en el estado de diaster dos parejas X Y en vez de una.

Otte también ha hallado diferente número de cromosomas en *Locusta;* en algunas espermatogonias existen 31, 30 ó 28 de estos elementos, correspondiendo a esta diferencia un número variable de cromosomas bivalentes en los espermatocitos (16, 15 ó 14). En esta especie, el número característico es de 32 más el elemento X. Otte hace notar que, la diferencia en su número, puede nacer de un error cometido al numerarlos, puesto que en algún caso ciertos cromosomas de pequeño tamaño pueden estar cubiertos por los grandes!

Antes de estos autores, también se han citado casos de variación individual en el número de cromosomas. (Montgomery, en *Acridium;* Wilson, en *Lygaeus,* etc.)

Por lo que respecta al *Blaps*, la diferencia en su número no se presenta exclusivamente en un solo ejemplar, sino que en el mismo folículo, a veces en cistos vecinos, he podido hallarla bien manifiesta. Por otra parte, la relativa separación que entre los cromosomas existe, facilita su dibujo mediante la cámara clara y su numeración sobre la figura obtenida.

Stevens (1908) ha estudiado en las *Diabrotica* la cuestión de los cromosomas supernumerarios, que aparecen en algunas de estas especies y que tienen mucha importancia en lo que se refiere a la variación de la especie. Mis observaciones sobre este punto son muy escasas, y en el presente trabajo no he podido llegar a una conclusión definitiva.

---

(1) Aunque Zweiger no ha mencionado la diferencia de tamaño de ambos cromosomas sexuales, Stevens (1910) ha comprobado su realidad.

La estructura del citoplasma no difiere en nada de la descrita en los otros estados. En la figura 8 se observa bien claramente el retículo citoplásmico formado por anchas mallas; la célula ha alcanzado el máximum de su desarrollo. Los cromosomas aparecen incluídos en una zona más obscura y casi homogénea, que corresponde al huso acromático visto en sección transversal. La membrana nuclear persiste casi en su totalidad y la cavidad primitiva del núcleo ha sido invadida por los microsomas citoplásmicos.



En resumen, los rasgos más salientes de la mitosis somática en el *Blaps* son los siguientes: en el núcleo en reposo se distingue más o menos claramente una disposición en bandas formadas por granos de cromatina. Durante la profase aparecen los cromosomas, gracias a la concentración del material cromático de estas bandas, sin que se forme un espirema continuo como se ha supuesto en muchos casos. Los cromosomas no están divididos longitudinalmente ni tampoco aparecen paralelos y próximos, como si se originasen por la división longitudinal de un cromosoma único. En la placa ecuatorial se disponen en un solo plano y se dividen longitudinalmente durante la metacinesis, pasando las mitades así producidas a los polos respectivos del huso. Durante la telofase no parecen disociarse los gránulos que les integran, permaneciendo más o menos claramente individualizados a través del período de reposo.

OTRAS GENERACIONES DE ESPERMATOGONIAS

En los cistos de espermatogonias secundarias se pueden distinguir, a medida que avanza su evolución, un número variable de estos elementos, desde los dos primeros producidos por la división de la espermatogonia primaria, hasta 12 ó 14. Durante todas estas generaciones no pierden su disposición típica en ro-

setas, pero después de alcanzar el máximum de su tamaño y dividirse, el número de espermatogonias en el cisto se duplica y entonces éstas pierden su forma cónica característica y se hacen poligonales, apretadas unas contra las otras; su núcleo presenta contorno circular u oval y el mitosoma aparece más o menos próximo a la membrana celular. En la figura 1, los cistos marcados con las letras *es.*, representan dos generaciones distintas; en uno de ellos, el de la derecha, todas las espermatogonias que le componen están en la profase temprana; el de la izquierda representa el período de reposo que sigue a la última telofase gonial, es decir, el reposo de los espermatocitos de primer orden. En estos cistos el número de espermatogonias es muy elevado y aunque no he podido determinarle con exactitud, cosa que por otra parte, no tiene ningún interés para mi estudio, me parece que pasa de 50 ó más células. Los elementos del último cisto sufren todos los cambios inherentes al período meiótico para transformarse finalmente en espermatozoides. En la misma figura, el cisto marcado con *esc.*, representa estos elementos al final de la sinapsis.

No he podido determinar con certeza el número de generaciones de las espermatogonias, que me parece no pasa de cuatro o seis.

MITOSIS ANORMALES

No son raras estas mitosis, que se caracterizan casi siempre por la existencia de tres o más centrosomas que son causa de la formación de varios husos acromáticos y de la repartición desigual de la cromatina. En una gruesa espermatogonia, he observado una de estas figuras; el número de cromosomas era el doble del normal a juzgar por la presencia de dos cromosomas X acompañados de cuatro *a* y *b*. La placa ecuatorial así constituída, estaba dislocada, correspondiendo a dos placas unidas por un punto de su periferia y en distinto plano, formando un ángulo ob-

tuso; en vez de dos centrosomas existían tres, que provocaban la existencia de dos husos que tenían una mitad común, y la otra dividida en los husos correspondientes a los dos centrosomas, que ocupaban uno de los polos.

Las espermatogonias sufren también otros procesos de degeneración, cuya causa no puedo determinar positivamente.

IV.—El período meiótico.

Después de haber descrito la mitosis gonial, vamos a entrar en la exposición de los fenómenos que tienen lugar durante el período meiótico, el punto más importante para el objeto que me he propuesto.

Divido esta parte en dos secciones, que comprenden respectivamente la profase heterotípica y las divisiones de maduración.

PROFASE HETEROTÍPICA

Estado de reposo en los espermatocitos de primer orden.—La telofase que sigue a la última mitosis gonial, produce los núcleos de los espermatocitos de primer orden, que pasan por un período de reposo bastante largo; son de pequeño tamaño, de contorno poligonal y núcleo central o algo excéntrico, sus dimensiones varían entre 9 a 12 μ para toda la célula, de las que corresponden 5,5 a 7 μ al núcleo. Este último es esférico, con una membrana bien manifiesta y el contenido cromático dispuesto en un retículo irregular. La cromatina se tiñe en verde por el *Lichtgrün* y está finamente dividida en gránulos; entre éstos se distingue una acumulación mayor que retiene con más viveza la hematoxilina férrica y aparece como un cariosoma; corresponde al material cromático del cromosoma X, como demuestra su evolución ulterior. La excentricidad del núcleo, que alcanza su grado máximo durante las fases siguientes, no es aquí bien manifiesta. Los

cistos en este estado son muy abundantes; están formados por un gran número de espermatocitos, apretados unos contra otros y rodeados por las células foliculares, que en este estado, presentan el mismo aspecto que en los cistos de espermatogonias. La figura 14 representa un espermatocito durante esta fase.

Salida del reposo.—El primer indicio de la profase que empieza, es la concentración de la cromatina en masas más considerables, que atraen con avidez la hematoxilina y se condensan paulatinamente en la periferia nuclear formando los cromosomas; entre éstos no se distinguen claramente los *a* y *b*, pero sí el elemento X que se condensa, tiñéndose fuertemente y resistiendo por mucho tiempo a la decoloración.

Durante las últimas mitosis goniales, los tres cromosomas pierden su forma primitiva transformándose en otros elementos más robustos y cortos. Al principio de la profase heterotípica, uno de cuyos aspectos representa la figura 16, la excentricidad del núcleo está ya bien manifiesta; el centrosoma, incluído en una masa irregular más obscura y granulosa, está colocado cerca de la membrana nuclear y rodeado por una fina zona hialina. El resto del citoplasma es finamente granuloso y abunda especialmente alrededor del centrosoma. La cromatina constituye masas bastante considerables e individualizadas, reunidas entre sí por medio de anastomosis irregulares; tiene una marcada tendencia a concentrarse en uno de los hemisferios nucleares. El cromosoma X aparecía en este caso como un bastón cromático, de contorno irregular y dividido en dos por una hendidura trasversa. En los demás núcleos su forma es muy variable presentándose como un complejo irregularmente granuloso o concentrado, constituyendo un filamento corto y grueso. El resto fusorial (mitosoma) de la última mitosis gonial no está representado en la figura.

En la figura 17, tomada de una preparación teñida solamente por la hematoxilina férrica, he dibujado el núcleo en corte óptico; toda la cromatina condensada en cromosomas bien ma-

nifiestos, aunque de contorno irregular, esta alojada en la periferia junto a la membrana nuclear, dejando en el centro del núcleo un espacio hialino desprovisto por completo de material cromático y filamentos de linina. En las células descritas, así como en otras muchas observadas, no he podido encontrar un nucleolo verdadero. El citoplasma se presenta con el mismo aspecto descrito anteriormente, y el resto fusorial *(f.)* es bien visible, reconociéndose por su apariencia homogénea y compacta; también puede comprobarse la existencia de uno de los cuerpos cromáticos descritos al hablar de las espermatogonias. Alrededor de la formación obscura que rodea el centrosoma y que representa, verosímilmente, la esfera atractiva y la masa de mitocondrias, existen algunos finos condriomitos dispersos.

A partir de este estado, los cromosomas comienzan a emigrar hacia el hemisferio nuclear que está en contacto con la mayor cantidad de citoplasma; el volumen del núcleo ha aumentado ligeramente y la membrana es más fina. La figura 18 representa una de las fases del proceso; se puede observar perfectamente la aglomeración de los cromosomas en uno de los polos, pero aún quedan algunos de ellos rezagados en el hemisferio opuesto. El cromosoma X se ha condensado y ha adquirido una forma más gruesa y corta. En la figura siguiente, la emigración cromosómica ha progresado considerablemente, quedando una parte del núcleo desprovista por completo de estos elementos; también ha aumentado la condensación del elemento X, que ocupa en la figura la periferia del casquete esférico formado por los cromosomas; no se puede apreciar en ésta el centrosoma ni la masa mitocondrial que le rodea. Hay un elemento que parece corresponder, por su aspecto, a un verdadero nucleolo; se tiñe en verde más pálido que la cromatina y está relacionado con filamentos de linina, de cuya condensación puede también haber nacido.

Por último, en la figura 20 los cromosomas han formado una masa compacta en la que, sin embargo, pueden distinguirse los

elementos que la integran, aun en los casos en que están más concentrados, bajando el condensador e iluminando oblicuamente; su individualidad se conserva también a través de esta fase, sin que se fundan en una sola masa cromática. Este es el estado conocido con el nombre de sinapsis.

SINDESIS Y SINAPSIS

La sindesis, uno de los puntos más interesantes, pero que más dificultades presenta para su estudio detenido, no se puede analizar aquí con la profundidad que requiere el caso, por coincidir con la sinapsis o primera contracción nuclear, durante la cual toda la cromatina se condensa en uno de los hemisferios del núcleo sin perder, como hemos visto, la individualidad, los cromosomas que la constituyen. Aun diferenciando fuertemente, el momento preciso en que cada dos cromosomas se unen para constituir una pareja o cromosoma bivalente, pasa desapercibido por completo. Es, por consiguiente, muy difícil decidir si en esta fase se unen entre sí por sus extremos, *end to end* (conjugación metasindética de Haecker), o si, por el contrario, lo hacen a lo largo disponiéndose paralelamente, *side by side* (conjugación parasindética del mismo autor). Por otra parte, su forma particular esférica o ligeramente oval dificulta aun más la interpretación del fenómeno, pues, aun en el caso de verificarse éste de una manera visible, se vería uno perplejo para decidir con certeza cuál de los dos procesos citados acaece. Sin embargo, en estados ulteriores, como más adelante veremos, se puede afirmar sin temor a cometer un error de interpretación, que la metasindesis es aquí la regla, fundándose en el análisis de los filamentos cromosómicos del núcleo en el período de crecimiento. En muy raros núcleos he podido sorprender una fase en la que los cromosomas antes de la sinapsis, se aproximan por parejas sin llegar al contacto, ni mucho menos a la fusión; probablemente representa este fenómeno un estado precoz de lo

que va a ocurrir después, durante la sinapsis o primera contracción nuclear, como la han llamado FARMER y MOORE.

Cuando los cromosomas son alargados, en forma de asas u horquillas, es más factible seguir toda la marcha de la sindesis y decidir con certeza si es uno u otro procedimiento el que se lleva a cabo. Como en mis preparaciones estos núcleos citados últimamente son excepcionales, presentando la mayor parte de ellos el aspecto de los representados en las figuras 16-19, me inclino a creer que la sindesis y la sinapsis son aquí dos procesos simultáneos, en vez de suceder como en otros casos, en que esta última se presenta después de aquélla.

ESTADO DE BOUQUET

Este estado es el de mayor duración en el *Blaps;* ocupan los cistos que contienen las células en esta etapa la mayor parte de la longitud del tubo testicular; los espermatocitos han alcanzado el máximum de su tamaño, que pasa desde 10 u 11 μ en el estado de reposo hasta 17 μ, correspondiendo 10 a 11 μ al núcleo; en este último, los filamentos cromosómicos bivalentes son moniliformes, formados por gránulos de forma y tamaño bastante regulares (figs. 25-26). A partir del estado de sinapsis, pueden observarse todas las fases de formación de estos núcleos. La masa de cromosomas, unidos dos a dos, como he dicho anteriormente, sin que haya podido sorprender el momento exacto en que esta unión se verifica, se resuelve en gruesos filamentos, contorneados y plegados, formados de granos al principio irregulares, ocupando el hemisferio nuclear en que la cromatina se encuentra condensada. Progresando el alargamiento y separación de estos gruesos filamentos se origina la hermosa figura del estado de *bouquet*, como se ha convenido en llamarla; en la figura 22 puede verse esta fase dibujada con toda fidelidad; la figura 23 la representa también en vista polar. El cromosoma X se distingue en seguida por su aspecto de nucleolo; la cromatina

que le constituye está formando una masa compacta que retiene enérgicamente la hematoxilina férrica, cuando los demás cromosomas, a causa de una excesiva decoloración, la han perdido por completo.

En las preparaciones fijadas por el FLEMMING y teñidas por el violeta de genciana y la safranina, dicho cromosoma se tiñe intensamente en rojo por esta última, mientras que los filamentos atraen el violeta. Empleando la coloración BIONDI-EHRLICH-HEIDENHAIN se tiñe en verde como la cromatina. Se desprende de estos hechos que, aun cuando su aspecto recuerde el de un nucleolo verdadero, las reacciones que presenta no responden a las propias de este último elemento.

Los filamentos bivalentes no presentan en este estado indicio alguno de hendidura longitudinal que pueda recordar la formación de asas paquiténicas, como sucede en los casos de conjugación parasindética. Algunos de ellos se apoyan por uno de sus extremos en el cromosoma X; en la figura puede apreciarse bien la existencia de uno particularmente largo, plegado, unido al cromosoma sexual por uno de sus extremos, formado en un buen trayecto por finos gránulos dispuestos en serie lineal. Los restantes tienen también contorno irregular y longitud variable; su escaso número, en relación con el de las parejas que aparecen más tarde, hace sospechar que se componen de varias de estas últimas unidas por sus extremos, formando a semejanza de un ovillo o espirema segmentado transversalmente; están unidos entre sí por medio de finas anastomosis de linina.

La membrana nuclear es muy fina, distinguiéndose la mayor parte de las veces por los microsomas que se depositan en su superficie. Es digno de notar en este estado y los precedentes que el volumen del núcleo es sensiblemente el mismo; muchos autores, al describir la sinapsis, tratan de explicar la concentración cromática suponiendo que al aumentar el volumen nuclear y crecer, por consiguiente, la cantidad de jugo en él contenido, al no participar de este crecimiento la cromatina, produce el

efecto de que su condensación ha aumentado cuando, en realidad, se ha mantenido constante. Esta explicación será cierta y perfectamente aplicable en otros casos; pero, en el presente, no parece ser una de las causas que contribuyen al efecto obtenido. Tampoco me referiré a la opinión que aun mantienen algunos autores que consideran la sinapsis y estos estados como un artificio producido por los reactivos al coagular los albuminoides nucleares.

En la misma figura, tomada de una célula en contacto con la pared del cisto, he representado una de las células foliculares que le rodean. Su núcleo elíptico, más o menos regular, ostenta la cromatina distribuída por la periferia y unidas las masas entre sí por anastomosis irregulares. Junto a la membrana nuclear aparece un centrosoma rodeado de una fina zona hialina e incluído en el material de la esfera.

Las figuras 24 y 25 representan una etapa más avanzada del proceso. Los filamentos cromosómicos se han extendido más por la cavidad nuclear, que ha aumentado de tamaño considerablemente, midiendo su diámetro en la figura 24,10 µ. Los filamentos han regularizado más sus contornos; los gránulos, más numerosos, son también de tamaño más igual. En la figura 24 el cromosoma X está colocado en contacto con la membrana; en la mayor parte de los espermatocitos observados sucede esto mismo, correspondiendo su posición a la región central del acúmulo cromático. En la figura 25 está situado próximo al centro del núcleo, pareciendo corresponder a la posición excéntrica en dicha acumulación. En ambas figuras está unido con dos filamentos de tamaño desigual; los restantes son más abundantes y cortos en una de las figuras (24); en la otra, más largos e irregulares. En las figuras 26-27 he representado la fase final de este proceso. Los cromosomas bivalentes están dispersos por el núcleo y sin orden aparente.

La membrana nuclear es de excesiva delgadez; los filamentos moniliformes, de diversa longitud, están formados ahora por grá-

nulos bastante regulares, colocados en serie lineal a lo largo de un armazón de linina; en algunos puntos existen masas más considerables, especialmente en los extremos, que suelen terminar en forma de maza; todos los filamentos están unidos entre sí por finas y escasas anastomosis. El cromosoma X destaca perfectamente en el núcleo, por su forma oval o redondeada, a veces marcadamente cuadrangular, apareciendo como un nucleolo cromático intensamente teñido en negro por la hematoxilina férrica. Diferenciando mucho por el alumbre, los filamentos pierden su coloración negra tiñéndose en verde por el *Lichtgrün*, mientras que el cromosoma X la retiene enérgicamente. Su posición, lo mismo que en los estados anteriores, es excéntrica; a veces está en contacto con la misma membrana nuclear, generalmente en su proximidad sin llegar a tocarla. Sirve de punto de apoyo a ciertos filamentos cromáticos que se unen con él por uno de sus extremos en número variable. En todos los núcleos observados hay una relación constante entre el cromosoma X y los dos filamentos más largos, que corresponden a los cromosomas *a* y *b*. En la figura 26 se insertan en él cuatro filamentos, dos de pequeño tamaño y los restantes mucho más largos, con sus extremidades libres superpuestas y quizás en contacto, aunque no fusionadas, como demuestra su evolución ulterior. En cambio, en el núcleo dibujado en la figura 27, los cromosomas *a* y *b* parecen estar unidos directamente entre s y no por el intermedio del cromosoma X, como ocurre en la otra figura; la dualidad así originada se apoya por uno de sus extremos sobre el cromosoma sexual. En algún caso, muy raro por cierto, dicho cromosoma aparecía aislado por completo de los demás.

En algunos cromosomas aparece una hendidura longitudinal que se traduce por la separación del filamento único en los extremos; en la fase de segunda contracción nuclear, dicha hendidura es más aparente.

El estado descrito parece ser de gran duración, a juzgar por

la abundancia de las células que le presentan; la relación entre el elemento X y los dos filamentos cromáticos más largos, ha sido comprobada, no ya en ciertos núcleos, sino en centenares de ellos.

El citoplasma en este estado está ocupado por un retículo de finos microsomas y dos formaciones muy características. Una de ellas, en contacto con la membrana nuclear, está situada en la parte de la célula más rica en citoplasma. Aparece casi homogénea o finamente granulosa, y más teñida que el resto; en su periferia existen gránulos aislados o dispuestos en escasos condriomitos. En varias ocasiones he podido observar en su seno un centrosoma rodeado por una zona algo más clara. Como la mayor parte de esta masa está formada por mitocondrias, me parece corresponder al cuerpo mitocondrial de los autores.

La segunda formación, de aspecto homogéneo, es el resto del huso acromático (mitosoma), de la última división espermatogonial. En la figura 26 *(f.)* se aprecia bien junto a la membrana nuclear; aparece estrangulado en su porción media. A veces puede comprobarse la existencia de un verdadero puente intercelular, que reúne dos espermatocitos vecinos y que está constituído por esta formación.

SEGUNDA CONTRACCIÓN NUCLEAR

Después de un largo período en el que los filamentos cromosómicos ocupan toda la cavidad nuclear, comienza otra fase de concentración de la substancia cromática que les constituye, para formar finalmente, los cromosomas diacinéticos. Al mismo tiempo la cantidad de cromatina parece también aumentar considerablemente, como demuestra el examen de las figuras 28-30.

Durante este período, lo mismo que en los descritos anteriormente, no se puede sorprender indicio alguno de replegamiento metasindético.

Los cromosomas bivalentes aumentan considerablemente de grosor al mismo tiempo que disminuye su longitud. Su contorno, irregular al principio, se hace más igual y definido. Durante este estado fijan con avidez la hematoxilina férrica.

En muchos casos puede observarse un carácter importante para la interpretación ulterior de las mitosis madurativas. En cada filamento bivalente, a partir de los extremos, se observa una separación en dos mitades que origina figuras en forma de Y y aun de X en algunos casos. En la figura 28 no son bien visibles; en la figura 29 he dibujado algunos de estos cromosomas, sorprendidos en diversos núcleos; los *a*, *b* y *c* tienen una forma de Y, característica, sin que se pueda demostrar una hendidura longitudinal en el resto del cromosoma; el señalado con la letra *d* es más difícil de encontrar; en este último, a partir de ambos extremos, ha comenzado la separación en las dos ramas deteniéndose al llegar al centro del filamento doble y originando a manera de una X.

Finalmente, en la figura 30, uno de los gruesos filamentos que se insertan sobre el cromosoma X, presenta una hendidura longitudinal bien manifiesta.

Interpreto esta separación en dos mitades longitudinales, como un indicio precoz de la división que se lleva a cabo durante la segunda mitosis de maduración (homeotípica). Por otra parte, su existencia no es tan frecuente que haga pensar en un carácter constante de los cromosomas en este estado.

A medida que progresa la concentración del material cromático perteneciente a los dos cromosomas de cada filamento bivalente, comienza a manifestarse claramente la hendidura transversal que les separa. En este estado es imposible comprobar si la división longitudinal persiste; aun decolorando mucho, siempre aparecen compactos.

En la figura 28 pueden verse ya algunos de estos cromosomas, que se han constituído definitivamente antes que los restantes. En este núcleo, ciertos filamentos, cabalmente los más

largos, tienen aún un contorno muy irregular; la cromatina se ha precipitado en algunos puntos mientras que en otros existe todavía en finos gránulos seriados. Todos los cromosomas, unidos entre sí por anastomosis de linina, tienden a concentrarse en uno de los hemisferios nucleares. El cuerpo mitocondrial, durante esta fase, se ha desarrollado notablemente, alargándose, a la vez que los gránulos que le integran constituyen largos filamentos que, en cortes de testículos fijados por el licor de Zenker y tratados por la hematoxilina férrica, se tiñen intensamente en negro. El fascículo filamentoso se extiende a partir de uno de los lados del núcleo, hasta rodearle completamente. La célula comienza en este estado a perder su forma característica.

En la figura 30 he representado un estado más avanzado de la segunda contracción nuclear. En esta célula existe un centrosoma junto a la membrana.

Progresando la concentración de la cromatina, se llega a las figuras 31-32, que representan el final de la profase heterotípica. Los cromosomas bivalentes son de tamaño más considerable que los de la placa ecuatorial de las espermatogonias; aparecen estrangulados en su región media, indicando una separación entre los dos elementos que les constituyen; en muchos casos existe una hendidura transversal bien manifiesta; en otros tienen contorno elíptico, sin que pueda demostrarse su constitución a expensas de dos porciones. Están unidos entre sí por filamentos de linina, constituyendo muchas veces a manera de un espirema segmentado.

Al mismo tiempo, el centrosoma, que está en contacto con la membrana nuclear (fig. 31), se divide en dos (fig. 32); ambos centrosomas hijos comienzan a separarse, para colocarse en los extremos de un diámetro nuclear. El núcleo en este estado es elíptico o fusiforme y está rodeado casi por completo por las mitocondrias, que a menudo permanecen más concentradas en el lugar en que se diferencian primitivamente.

No he podido determinar con exactitud si existe un huso

central entre los dos centrosomas hijos; por otra parte, la escasez de anastomosis de linina en el interior del núcleo hace suponer que los filamentos del huso no se originan a expensas de ellos, como ya he señalado al hablar de las espermatogonias (página 46). Probablemente, las radiaciones del aster atraviesan la membrana nuclear, facilitando su paso la delgadez extrema de esta última, que, por otra parte, puede haber desaparecido ya como tal formación.

En este momento pueden contarse los cromosomas con toda exactitud. En el núcleo dibujado en la figura 32 hay, en total, 17 elementos cromáticos, de los cuales 16 son cromosomas bivalentes que corresponden, por consiguiente, a los 32 ordinarios de la placa gonial; el otro elemento es el complejo cromosómico, formado por los *a* y *b* y el cromosoma X. En total existen, pues, los 35 contados en las espermatogonias. En dicha figura, sin embargo, sólo he representado 13 elementos bivalentes y el complejo cromosómico; las otras tres dualidades aparecían en distinto plano, y no han sido dibujadas.

En otros núcleos observados sólo existían 16 elementos, que corresponden al caso en que hay 33 cromosomas en la placa gonial.

La profase heterotípica termina en este momento. Los filamentos del huso atraviesan el espacio interior del núcleo, insertándose sobre los cromosomas que se disponen en la placa ecuatorial.

Las mitosis de maduración.

PRIMERA DIVISIÓN MADURATIVA

En la placa ecuatorial de esta mitosis, los cromosomas ocupan, próximamente, un mismo plano, a excepción del complejo cromosómico, que, generalmente, aparece en otro distinto, con el vértice de la V dirigido hacia uno de los centrosomas y los extremos libres de la misma hacia la placa ecuatorial. He con-

tado los cromosomas en varias de estas placas; en la mayor parte de ellas su número es de 16 elementos bivalentes y el complejo X. En otras muchas, en cambio, sólo he podido encontrar 15 de estos elementos y el complejo citado, que corresponderían a los 33 cromosomas que he contado en varias espermatogonias. Como no he hecho un estudio detenido de las placas ecuatoriales en ambas clases de células desde este punto de vista, no puedo decidir con certeza las causas que motivan esta diferencia en un mismo testículo y aun en un mismo folículo testicular. En otro trabajo volveré sobre esta cuestión, que no podrá ser resuelta hasta hacer un estudio muy cuidadoso de gran número de preparaciones.

Las figuras 33 y 34 representan, respectivamente, dos placas ecuatoriales vistas de lado y desde uno de los polos del huso. En la 34, el complejo cromosómico, aunque no está colocado en el mismo plano ha sido representado junto a los demás elementos.

En la figura 35 he dibujado la metacinesis en una de estas placas. El complejo X se ha disociado ya; los cromosomas *a* y *b* tienen una forma más corta y gruesa que en los estados que preceden: uno de ellos pasa al polo inferior del huso; el otro acompaña al elemento sexual. En varias parejas se han separado ya los cromosomas bivalentes, que en otras aun persisten unidos entre sí. Entre cada dos cromosomas pertenecientes a una misma pareja, queda una fibra de conexión que les une durante largo tiempo.

Las figuras 36 a 39 representan varios estados de la anafase. Se puede comprobar perfectamente en todas ellas la existencia del cromosoma X en uno de los espermatocitos de segundo orden, acompañando a uno de los grandes. En la figura 36, hay en cada una de las células hijas 16 cromosomas ordinarios; en adición a éstos, existe en una de ellas el cromosoma sexual. En la figura 37 ha comenzado a aparecer la membrana que separa ambas células hijas; éstas están separadas por una estrangulación transversal; las fibras de conexión forman un fascículo más apre-

tado. Los condriomitos se precipitan sobre estos filamentos; parte de ellos persisten en la figura, formando un fascículo secundario *(m.)* que, al parecer, no tiene relación alguna con las fibras fusoriales. En esta figura no he representado todos los cromosomas en ambos espermatocitos. En uno de ellos puede apreciarse ya la aproximación de los cromosomas, que se tocan en estados ulteriores sin llegar a fundirse.

Los espermatocitos de segundo orden persisten durante bastante tiempo reunidos entre sí por medio del resto fusorial. En la figura 39 he representado dos de estos elementos prontos a separarse. En ellos los cromosomas se han condensado más y llegan a tocarse. Ya en los primeros estados de la anafase he podido observar una marcada tendencia a reunirse entre sí, formando generalmente parejas, que aparecen como diadas y podrían ser tomadas como tales si no hubiese pruebas suficientes en contra de la formación de verdaderas tetradas; la hendidura longitudinal que aparece durante la segunda contracción nuclear, se oblitera por completo hasta el punto de no volverse a reconocer como tal. Además, si se cuentan todos los elementos que constituyen estas presuntas diadas, se convence uno pronto de que su número corresponde al de parejas que entraron a constituir la placa ecuatorial. La división longitudinal que se lleva a cabo durante la segunda mitosis, no es manifiesta en estos estados.

Al terminar la anafase, todos los cromosomas constituyen una masa más o menos compacta, incluída en una zona citoplásmica muy finamente granulosa, ocupada en su centro por una región hialina. Las células hijas se alargan considerablemente, persistiendo unidas por los restos del huso. En las preparaciones fijadas por el licor de Zenker, los filamentos de este último aparecen sembrados de finos gránulos dispuestos en serie lineal, que se tiñen intensamente en negro por la hematoxilina férrica; corresponden a los condriomitos que rodearon el huso acromático y que son empujados y comprimidos por la membrana celular na-

ciente, formando el fascículo apretado que he citado anteriormente. La placa celular es bien manifiesta y está formada, generalmente, por cuatro gránulos intensamente teñidos en negro (figura 39).

Finalmente, los dos espermatocitos de segundo orden acaban por separarse completamente y modifican su forma haciéndose poligonales. El resto fusorial parece disgregarse en masas redondeadas e irregulares. Los cromosomas, agrupados densamente, comienzan a separarse por la aparición de un espacio hialino, disponiéndose en su periferia sin llegar a formar retículo alguno, si bien su contorno se hace algo irregular. A su alrededor aparece una finísima membrana nuclear. Las mitocondrias procedentes de la disgregación de los condriomitos y los restos del huso acromático, se disponen alrededor de uno de los hemisferios, constituyendo a manera de un *Nebenkern* difuso y transitorio que, repartiéndose con equidad entre las espermátidas durante la segunda cinesis, pasa a constituir el *Nebenkern* definitivo que se encuentra en estas últimas.

El centrosoma se divide en dos y éstos se colocan en los extremos de un diámetro nuclear.

Vemos, pues, que en la telofase, que es aquí de corta duración, la cromatina no sufre cambios profundos que alteren en nada la individualidad de los cromosomas, tan patente, que pueden distinguirse con suma facilidad en estos núcleos (fig. 40).

Las figuras 41-42 representan la formación del huso en dos espermatocitos de segundo orden; el primero representado carece de cromosoma X y su núcleo está visto en sección óptica. En el otro los filamentos del huso han invadido ya el núcleo; en este último se distinguen bien dos cromosomas más grandes que están en contacto, uno de los cuales es el cromosoma X. A su alrededor puede observarse el área hialina ya mencionada.

Stevens (1905), en *Tenebrio molitor*, dice, que el huso de la segunda mitosis madurativa nace a expensas de los restos del de la primera. En *Blaps*, según se deduce de las figuras, no parece su-

ceder esto mismo, si bien no puedo asegurar con certeza la manera de originarse dicha importante formación.

SEGUNDA DIVISIÓN MADURATIVA

A partir del estado precedente, el huso acromático adquiere un desarrollo considerable y los cromosomas, formando primero una masa apretada, comienzan a disponerse en la placa ecuatorial de la segunda mitosis (fig. 43). Pueden distinguirse perfectamente dos clases de éstas, según lleven cromosoma X o carezcan de él. La segunda división parece ser muy rápida, a juzgar por la escasez de espermatocitos en este estado. Aunque no he podido sorprender en mis preparaciones el momento preciso en que la metacinesis se verifica, la repartición equitativa de los cromosomas entre las espermátidas hace suponer que se trata de una división longitudinal, pues de otra manera no puede explicarse la presencia del mismo número de cromosomas en las células hijas.

En la fig. 44 he representado una placa ecuatorial vista de perfil, en la que al lado de los restantes cromosomas que, como puede apreciarse, ni forman diadas ni aparecen divididos longitudinalmente, existe el cromosoma sexual.

La fig. 45 representa una anafase en esta última clase de espermatocitos. Las dos espermátidas reciben las mitades en que se dividen los cromosomas de tipo ordinario en adición al cromosoma X, que también se divide de la misma manera.

En la fig. 46 he representado una placa celular hija, en la que hay solamente 16 cromosomas, sin cromosoma sexual. En esta placa, aunque aparecían a distinto nivel, han sido dibujados como si estuvieran todos en el mismo plano.

La fig. 47 representa la anafase, vista de perfil, en un espermatocito sin cromosoma X. En todas ellas las mitocondrias rodean al huso formando a su alrededor una fina capa que no es tan visible como en la división de los espermatocitos de primer orden.

Por último, en las figuras 48 y 49 he dibujado la anafase final de dos espermatocitos de segundo orden. La membrana celular ha aparecido ya y la placa intermediaria es bien visible. Los cromosomas se aproximan y aun parecen fundirse en una de las espermátidas, constituyendo una sola masa. Los restantes caracteres de las células son los mismos que he descrito al hablar de la primera mitosis madurativa. En la fig. 48 no existía el cromosoma X. En la 49 no se puede determinar su existencia con exactitud; en esta última figura las espermátidas están a punto de separarse completamente.

Espermátidas.

El estudio de las transformaciones que sufre la espermátida hasta convertirse en espermatozoide, ha sido una de las cuestiones que más han atraído la atención de los investigadores. Su descripción, sin embargo, se sale de los límites que me he impuesto en el presente trabajo y como solamente el núcleo ha sido el que he observado más cuidadosamente, me limitaré a seguir la evolución de éste hasta el momento en que, perdiendo su individualidad los cromosomas, comienza la condensación cromática que ha de originar, finalmente, la cabeza del espermatozoide.

En la fig. 50 represento una espermátida poco después de originarse. En el núcleo se distinguen dos gruesas masas cromáticas que corresponden, respectivamente, al cromosoma X y a uno de los gruesos cromosomas de tipo ordinario. Los restantes cromosomas aparecen bastante individualizados y condensados en uno de los hemisferios nucleares. El centrosoma está en contacto con la membrana del núcleo y parece rodeado de una zona más obscura e irregular. El *Nebenkern* es de contorno elíptico y pueden observarse en él estrías dispuestas a manera de meridianos, que representan las fibras del huso de la última división.

A este estado sigue otro, en el cual la cromatina forma un retículo más o menos regular que se extiende por la periferia del núcleo. En estos núcleos he podido encontrar algunas veces un nucleolo verdadero. En algunas de estas espermátidas se distingue el cromosoma X, que aún no ha perdido su individualidad y está colocado junto a la membrana. La espermátida ha aumentado de tamaño, especialmente el núcleo, que mide hasta 4 μ de diámetro.

Las figuras 51 y 52 han sido dibujadas de preparaciones fijadas por el Zenker y pertenecen al testículo de otro ejemplar. En la 51, el cromosoma X es bien patente. El *Nebenkern* ha aumentado de tamaño y se ha hecho homogéneo; el filamento axial del futuro espermatozoide le atraviesa de parte a parte. Junto a la membrana nuclear, y en inmediato contacto con el *Nebenkern*, hay una masa obscura e irregular que retiene enérgicamente la hematoxilina férrica y en la que parece estar colocado el centrosoma. En la fig. 52, la cromatina forma masas más considerables; no se aprecia en el núcleo rastro alguno de cromosoma X, que en esta espermátida no existe. El *Nebenkern* se ha alargado y toma figura fusiforme, rodeando al filamento axial que se distingue perfectamente en su interior. En su porción proximal, esto es, la más cercana al núcleo, está en relación con un centrosoma. El contenido nuclear o el núcleo entero, parecen haber girado 180°, puesto que a raíz de originarse, el contenido cromático ocupa el hemisferio nuclear dirigido hacia el sitio en que nace el *Nebenkern;* el centrosoma ocupa el hemisferio opuesto. En la fig. 50 parece haber comenzado ya este giro.

Después de estos estados, la cromatina se pulveriza aún más finamente, extendiéndose por todo el núcleo; poco después comienza a concentrarse en uno de los hemisferios y a la vez el núcleo se contrae considerablemente para formar la cabeza del esparmatozoide. Las figuras 53-55 representan tres de estos estados.

Antes de terminar, he de hacer una observación. En ningún

caso he podido asistir a la transformación del cromosoma X en la esfera, como VOINOV (1903) ha descrito en *Cybister Roeselii*. El cromosoma sexual es un constituyente normal de la cabeza en la mitad de los espermatozoides y su participación en la formación del núcleo del zigoto es tan indudable que no puede caber la menor duda sobre este punto, como se desprende de los cuidadosos estudios de los autores, resumidos en la primera parte de este trabajo.

V.—Discusión.

I.—LA MITOSIS SOMÁTICA Y LA HIPÓTESIS DE DEHORNE

Después de haber expuesto mis observaciones sobre la espermatogénesis en el *Blaps*, considerando con algún detenimiento la mitosis gonial, estudio que he creído aún más necesario en vista de los reparos que A. DEHORNE ha puesto a la interpretación corriente de las mitosis, basándose en sus propios estudios sobre varios animales y plantas (*Sabellaria spinulosa*, *Distomum hepaticum*, *Salamandra maculosa* y *Ophryotrocha puerilis*, entre los primeros, y *Allium cepa* entre las últimas), documentados con gran número de excelentes observaciones y buenas figuras, me parece oportuno comparar los resultados obtenidos por dicho autor en los objetos que ha estudiado y los que se desprenden del presente trabajo.

El punto capital de la teoría de DEHORNE está en la interpretación correcta de la mitosis somática que, según este autor, no ha sido observada con la profundidad que requiere el caso, como ha demostrado en *Ophryotrocha puerilis*, cuyos productos sexuales habían sido ya estudiados por varios autores (KORSCHELT, GRÉGOIRE y DETON y los SCHREINER). Yo me limitaré, por tanto, a discutir ahora este primer punto, habiendo llegado, como veremos más adelante, a resultados diametralmente opuestos a los

obtenidos por Dehorne en lo que precisamente él estima como fundamental. Al hablar del período meiótico volveré a insistir sobre esta cuestión.

En *Ophryotrocha puerilis* (1910, c), este autor ha estudiado cuidadosamente la anafase de la última división gonial, asegurándose de que el núcleo hijo está formado solamente por cuatro asas cromosómicas que se funden en una masa única, pero conservando su individualidad, siendo fácil contarlas, porque sus extremos emergen libremente en el citoplasma. Cada cromosoma, después de su separación de los restantes, es asiento de transformaciones interesantes; en su seno aparecen cavidades irregulares que, reuniéndose progresivamente unas con otras, acaban por producir una hendidura axial que le separa en dos mitades. Después de varios cambios que acaecen en cada una de las mitades así formadas, éstas se separan finalmente y caminan a profundidades diferentes en el jugo nuclear, manteniéndose unidas entre sí por medio de finas anastomosis, constituyendo una verdadera pareja, bien distinta, que jamás sale del territorio cromosómico a que pertenece. Los dos filamentos que la forman aparecen durante el período de reposo como dos líneas principales, irregulares, cuya mayor importancia destaca sobre el conjunto de la fina red de anastomosis. Lo mismo sucede para los demás cromosomas.

Del estudio de estas transformaciones, Dehorne ha deducido dos consecuencias muy importantes:

1.ª La división longitudinal de los cromosomas se realiza, no cuando éstos han alcanzado su forma más condensada, sino más bien al contrario, cuando pasan de esta última a la de largos filamentos moniliformes. Dicho de otra manera, la verdadera división longitudinal es extremadamente precoz; se realiza durante la reconstitución del núcleo, a expensas de las asas de la anafase, y no como se ha creído hasta hoy día, durante la profase o en la metafase. Es un fenómeno esencialmente telofásico.

2.ª Todo núcleo en reposo contiene, claramente individuali-

zados en su interior, dos veces más cromosomas que los que han entrado en su constitución después de la anafase (1).

Para salir del reposo, el proceso es muy simple; las ocho mitades longitudinales disminuyen de volumen, regularizan su trayecto por la fusión íntima de sus granos cromáticos, mientras que una parte de las anastomosis que los reúnen desaparecen. Por consiguiente, cada filamento de los ocho existentes vale, no como un cromosoma entero, sino como su mitad. Este mismo procedimiento se presenta en la mitosis somática.

Dehorne, en otros trabajos publicados posteriormente ha mantenido en todos los casos observados su criterio sobre este particular, y en uno de los últimos aparecidos (1911) ha considerado con mayor extensión todos los fenómenos que ha estudiado, creando toda una nueva teoría de las cinesis.

Ahora bien: como la mitosis no hace más que separar las mitades de los cromosomas y estas últimas están ya presentes en el núcleo quiescente y en la placa ecuatorial desde la anafase de la cinesis precedente, será necesario que estas mitades (cromosomas enteros, según los demás autores) caminen a los polos opuestos del huso *sin dividirse;* cuando se presenta en ellas una hendidura longitudinal, ésta no es sino un indicio precoz de la división que se prepara y alcanza su fin en la telofase que sigue.

Esta afirmación sirve de fundamento a la interpretación de Dehorne, que explica, por consiguiente, todo el proceso meiótico de las células sexuales de una manera distinta de la que siguen los demás citólogos; el número de cromosomas que después de la sindesis aparece reducido a la mitad, según la opinión corriente, es para este autor el normal de la especie.

Examinemos ahora los hechos demostrados en *Blaps*. Desgraciadamente, en mis preparaciones es muy difícil estudiar con detalle el proceso de la telofase, a causa, principalmente, del escaso

(1) Dehorne (1910), pág. 212.

volumen de los núcleos hijos y del pequeño tamaño de la mayor parte de los cromosomas. Cuando estos últimos ostentan la forma de largas horquillas es más fácil seguir toda la marcha de la reconstitución nuclear. Pero, aunque la telofase no pueda estudiarse con el detenimiento que requiere, es, en cambio, muy sencillo el recuento de los cromosomas durante la anafase, en la que aparecen bastante aislados unos de otros. Dehorne, precisamente, insiste en que no es indiferente el momento en que se cuenten, porque si se hace esto en la placa ecuatorial, encontraremos siempre el doble; pero, en cambio, si nos dirigimos a la anafase, nos convenceremos prontamente de que el núcleo hijo se reconstituye *a expensas de la mitad*, no de todos los cromosomas de la estrella madre; de esta manera ha descubierto, que en el caso de *Ophryotrocha puerilis* son cuatro, no ocho, los que sufren el proceso telofásico y por consiguiente el número normal para esa especie.

Pues bien, en las estrellas hijas que he podido encontrar en mis preparaciones y que constituían objeto propicio para el recuento, el número de cromosomas *es exactamente el mismo que en la placa ecuatorial*, esto es 35 (34 + cromosoma X), en vez de ser su mitad, en cuyo último caso, el cromosoma X, por ser impar y no dividirse, habría de pasar entero a uno de los polos del huso o de lo contrario ser el único que se divide. Si estos 35 cromosomas sufriesen, durante la telofase, una división longitudinal que les separase en dos mitades (fenómeno que, como ya he dicho, no he podido observar), su número se doblaría, y si las mitades así producidas, siguiendo la opinión de Dehorne, entran a formar la placa ecuatorial de la metafase siguiente, en esta última encontraríamos 70 cromosomas mitades, lo que no está de acuerdo en manera alguna con los hechos observados.

Pero para dar más fuerza aun a mi aserto, me basta remitir al lector a la fig. 5, que representa una anafase en que los cromosomas *a*, *b* y X, que se han dividido longitudinalmente, permanecen aún unidos por sus extremos. En esta figura, dibujada con

todo cuidado, la única alteración introducida ha sido representar en el mismo plano que los restantes el cromosoma grande que ocupa el centro. Los demás cromosomas mitades se corresponden exactamente en número y posición y han sido dibujados también con el mayor cuidado. Además de la fase representada en la figura citada, he podido estudiar otras semejantes. Según las ideas de Dehorne, esta división no debía existir; los cromosomas *a* y *b* se separarían simplemente y pasarían a los polos del huso y en caso de aparecer en ellos una hendidura longitudinal sería la que prepara la división telofásica.

Los hechos citados bastarán para convencerse, en mi sentir, de que las ideas de Dehorne son inaplicables al caso presente. Las afirmaciones rotundas y terminantes de dicho autor, así como la exactitud de sus excelentes figuras, forman, sin embargo, una masa de hechos que es indispensable tener en cuenta extremando aún más la finura en la observación y el detenido análisis de los casos que se estudien.

2.—EL PERÍODO MEIÓTICO

Después de haber descrito con el mayor detenimiento posible todas las transformaciones que experimenta la cromatina a través del período meiótico, sólo me resta añadir algunas consideraciones teóricas que sugiere la observación de las fases que le componen, y especialmente la tan debatida cuestión de la sindesis, que todavía no se ha resuelto satisfactoriamente, si bien parece que existen buenas pruebas en favor de la unión de los cromosomas *side by side*. Como habrá podido observar el lector en las páginas que preceden, yo me inclino a creer lo contrario, esto es, que la unión *end to end* es la que tiene lugar en el *Blaps*, y aun más: que es probable que sea el procedimiento más común entre los insectos.

Como ya he hecho notar (pág. 56), la sindesis y la sinapsis coinciden en este insecto, concentrándose toda la cromatina en

uno de los polos del núcleo, hasta tal punto, que no es posible descifrar lo que allí ocurre; decolorando fuertemente, sólo persiste intensamente teñido el elemento X; pero muy poco o nada, se gana en el estudio de los restantes cromosomas.

En primer lugar, he de hacer una advertencia importante: siguiendo las ideas más modernas, divido todo el período en que tiene lugar la conjugación de los cromosomas en dos fases: una comprende el momento en que estos elementos se aproximan por pares y se unen entre sí dos a dos para formar los cromosomas bivalentes; esta fase es la sindesis, que, si bien puede coincidir con la sinapsis, en muchos casos la precede, pudiéndose seguir todo el proceso de la conjugación paso a paso. En cambio, en su acepción más extensa, tal como Farmer y Moore la han descrito, la sinapsis comprende toda la serie de hechos que origina la unión temporal de los cromosomas por parejas, antes de su separación transversal y distribución entre las células hijas.

Aun cuando no se pueda sorprender el momento en que la fusión se verifica, ni pueda, por consiguiente, decidirse si es *end to end* o *side by side*, cosa que por otra parte, sería difícil de decidir, por la forma particular de los cromosomas, hay indicios suficientes en los estados ulteriores que permiten asegurar que el primer proceso es el que se lleva a cabo. En efecto, ni en el estado de *bouquet* ni en la fase en que los cromosomas están dispersos por el núcleo, puede demostrarse la existencia de una hendidura longitudinal hasta el momento en que comienza la segunda contracción nuclear. Para estar seguro de que tiene lugar la conjugación metasindética, es necesario estudiar con gran detenimiento dos de las etapas principales de la profase heterotípica; hay que decidir si existen núcleos zigoténicos (1), y estudiar las

(1) Gregoire ha denominado *Zigonema* al proceso de unión de los cromosomas *side by side*.

transformaciones que experimentan los cromosomas durante dicha contracción.

Respecto al primer punto, puedo asegurar con certeza que no existe zigonema, esto es, filamentos aparejados a lo largo que denuncien la formación de asas paquiténicas. Los filamentos moniliformes en ninguno de los estados de su formación ostentan hendidura alguna, que, de existir, se traduciría por la presencia de una doble serie de gránulos cromáticos dispuestos paralelamente. Al comenzar la segunda contracción, aparece en muchos casos, como hemos visto, una separación longitudinal de cada filamento bivalente; pero después se oblitera, a la vez que, acortándose éstos, constituyen finalmente, las diadas características que han de sufrir la primera división separándose en sus dos componentes.

Como la hendidura longitudinal no es carácter constante de todos los filamentos, y, además, su presencia es de escasa duración, me parece que es una prueba suficiente para demostrar que el zigonema no existe en absoluto en *Blaps lusitanica*, y que esta hendidura debe interpretarse, a mi entender, como un indicio precoz de la que acaece durante la segunda mitosis madurativa.

Tampoco he podido observar indicio alguno de replegamiento metasindético, como en otros insectos se presenta; los cromosomas aumentan de grosor y concentración sin perder su orientación primitiva.

Una prueba más de que la metasindesis es aquí la regla, la suministra el examen del complejo cromosómico formado por el elemento X y los cromosomas *a* y *b*. Hemos visto, por la disposición representada en las figuras 26-27, que en la primera de éstas el cromosoma X sirve de inserción a los dos largos filamentos que forman los cromosomas *a* y *b*, unidos entre sí por intermedio de este elemento, y que durante la segunda contracción, en vez de reunirse entre sí como sucedería si existiese conjugación parasindética, permanecen aislados, constituyendo, finalmente, una figura en forma de V. Aun hay más: en la figu-

ra 30 puede observarse perfectamente una hendidura longitudinal en uno de estos cromosomas; si hubiese conjugación parasindética, habríamos de admitir que los largos filamentos correspondientes a los cromosomas *a* y *b*, que serían dobles al existir la citada hendidura, corresponderían a cuatro grandes cromosomas, cosa que no está de acuerdo en manera alguna con los hechos observados.

En el caso de la figura 27, en la que los cromosomas *a* y *b* están unidos entre sí directamente, y, además, por uno de los extremos de la dualidad así constituída con el cromosoma X, este último elemento, en vez de ocupar el vértice de la V del complejo cromosómico, ocupa uno de los extremos. La longitud mayor del filamento en este último caso, exactamente doble de la representada en la figura 26, me autoriza a pensar en una unión metasindética de ambos cromosomas.

En resumen, puedo concluir, sin temor a cometer un error de interpretación, que en el *Blaps lusitanica* la conjugación es *end to end,* sin que haya indicio alguno de replegamiento metasindético como se ha observado en otros casos.

En la mayor parte de los insectos estudiados, la unión metasindética es la regla. MONTGOMERY (1898), en *Pentatoma (Euchistus),* al hablar de la sinapsis, supone que la reducción en el número de cromosomas tiene lugar en aquel momento. En sus trabajos posteriores (1900-05), ha demostrado que, además, esta fusión se verifica dos a dos y por los extremos libres; él ha sido el que ha introducido el término *end to end* que después ha sido admitido por los autores.

SUTTON (1902), GROSS (1904), NOWLIN (1906), STEVENS (1905-1906), ZWEIGER (1906), DAVIS (1908), COOK (1910), también han demostrado que la metasindesis ocurre en los casos por ellos observados, presentando variaciones de detalle que no alteran en nada el plan fundamental del proceso.

Ciertos autores (OTTE (1907), SCHAEFER (1907) defienden, por el contrario, que en los insectos que ellos han estudiado existe

una verdadera conjugación parasindética que sigue en todo la misma marcha que en los vertebrados, en que se ha observado con más detalle.

Otte, en *Locusta viridissima*, asegura que: «Der von mir beschriebene Vorgang der parallelen Aneinanderlegung zweier Chromatinfäden entspricht den Processen, die in den letzten Jahren bei ganz verschiedenen Objekten beschrieben worden sind.» Los cromosomas en este caso, aproximándose y disponiéndose paralelamente, acaban por soldarse a lo largo, constituyendo un zigonema perfecto. La comparación entre los resultados por él obtenidos y las descripciones y figuras de Montgomery en otro ortóptero, *Syrbula acuticornis*, le llevan a la conclusión de que en este acrídido es muy probable que suceda lo mismo que en *Locusta;* los resultados obtenidos por Montgomery nacerían de una interpretación errónea del proceso.

Schaefer, que ha estudiado la espermatogénesis en *Dytiscus*, asegura asimismo: Die feinen Chromatinfaden lassen mehr oder weniger deutlich eine «Anordnung zu Paaren» erkennen oder divergieren auch eine kurzer Stück, um sich dann wiederum einander zu nähern, sich zu überkreuzen und zu umwindem» (pág. 549).

Davis (1908), que ha estudiado la espermatogénesis en varios ortópteros, se muestra partidario de la conjugación metasindética y duda de la exactitud de las observaciones de Otte en *Locusta.* «I have occasionally seen—dice este autor—the spireme threads lying parallel to each other in pairs near the distal pole, as described by the Schreiners, but believe this an accidental arrangement, which is more common near the pole, since in this region the threads are crowded more closely together. Moreover it seems hardly probable that the chromosomes should conjugate granule by granule» (pág. 127).

Voinov (1903), que ha estudiado la espermatogénesis en *Cybister Roeselii*, forma próxima a *Dytiscus*, da una descripción tan incompleta de la sinapsis, que no es posible decidir el método de la conjugación. En primer lugar, nada dice de las transforma-

ciones que experimenta el núcleo a partir de la última anafase gonial, ni menciona si hay un estado intermedio de descanso, ni, finalmente, en qué momento se verifica la sindesis. Su descripción de este importante estado es la siguiente: «La chromatine est en forme de filaments très fins, enroulés, le long desquels on aperçoit microsomes. Quelques filaments ont leurs extremités dirigées vers le nucléole chromosomique, dont ils son très rapprochés, comme s'ils le poussaient vers la périphérie du noyau» (pág. 190). En un estado más avanzado: «Les filaments chromatiques ont grossi, se sont raccourcis et on ne distingue plus les microsomes; en même temps ils se sont reserrés encore plus à l'interieur de la cavité nucleaire.»

Sin embargo, las figuras y la descripción de la metafase heterotípica, que da este autor, hacen suponer que la fusión se verifica por metasindesis, separándose los cromosomas que constiyen el filamento bivalente durante la primera división.

Vemos, por los hechos apuntados, que en la mayor parte de los insectos la metasindesis es la regla, y que los casos en que la parasindesis ha sido citada, son mucho menos numerosos y excepcionales.

ZWEIGER (1906), en *Forficula auricularia*, ha descrito el replegamiento metasindético. Los cromosomas unidos *end to end* acaban por colocarse paralelos sin perder su conexión; la primera división que separa ambos cromosomas univalentes sería longitudinal a primera vista, sucediendo lo mismo que en la separación de las asas paquiténicas. «Da nun wiederum jedes dieser Chromosomen eine Längsspaltung aufwies, so geht daraus hervor, dass es sich um ein 4 wertiges Chromatinelement von der Zusammensetzung $\frac{a =}{b =}$ handelt. Durch die erste Reifungsteilung werden nun die Chromosomen *a* und *b* voneinander entfernt, so dass die Spermatocyten II Ordnung nur die Hälfte der Chromosomenindividuen besitzen; die erste Reifungsteilung ist somit eine Reductionsteilung (Präreductionsteilung)» (pág. 224).

Cook (1910), que ha estudiado la espermatogénesis en varios lepidópteros de la familia *Saturnidae*, añade que: «The Weismannian method of reduction could only be brought about if conjugation had taken place by an end-to-end union, as first interpreted by Montgomery (1900) for only in this way would there be one transverse and one longitudinal division so separating univalent chromosomes. A conjugation by parasynapsis would result in two reduction divisions and the individuality of the chromosomes would be destroyed» (pág. 319).

A esta última afirmación he de hacer notar que, en los casos últimamente estudiados y que demuestran que existe una parasindesis, el resultado final es el mismo que en aquellos en que la metasindesis es la regla, porque la primera división separa las ramas de los cromosomas diacinéticos, que no son sino cromosomas univalentes; y después, en la segunda mitosis madurativa, la división longitudinal se lleva a cabo, y en ambos casos aparece la reducción cualitativa de la cromatina como postula la hipótesis de Weismann.

Probablemente, los dos métodos de conjugación son verdaderos y no marcan más que una diferencia en el detalle, cuyas causas desconocemos concretamente. El creer que, por ser la primera división longitudinal, dicha mitosis reductora no se lleva a cabo, es, en mi sentir, dar un valor considerable a las palabras; la constitución y significación de las mitades que se separan durante la anafase, son los primeros factores que hemos de tener en cuenta al considerar el fenómeno.



De las ideas de Dehorne sobre la mitosis somática, se desprenden varias consecuencias de mucho interés, que, de ser ciertas, vienen a cambiar completamente la interpretación del período meiótico. Hemos visto ya (pág. 71) que, de sus observaciones sobre esta mitosis en diversos objetos, ha deducido este autor

que en la placa ecuatorial encontramos siempre doble número de cromosomas del normal de la especie y que esto se debe a que dichos elementos han sufrido una división longitudinal durante la telofase de la mitosis precedente, debiéndose interpretar, por consiguiente, los que existen en la placa gonial como cromosomas mitades.

Cuando a raíz de la sindesis encontramos en el espermatocito de primer orden la mitad de filamentos cromosómicos de los que existen en la placa gonial, se interpreta este fenómeno como una pseudoreducción en su número, producida por la fusión de cada dos elementos, constituyendo una pareja o cromosoma bivalente.

Pues bien: Dehorne niega por completo esta pseudoreducción: para él no hay metasindesis ni zigonema, y esto es una consecuencia lógica de su opinión sobre la naturaleza de los elementos que constituyen la placa gonial. Si estos últimos no son cromosomas enteros, sino las mitades producidas en la telofase de la cinesis precedente, es evidente que lo que sucede en el espermatocito a raíz de la sindesis no es más que la aproximación, la fusión en muchos casos, de las mitades que estaban separadas y que vuelven a constituir el cromosoma entero. De esta manera, el número haploide de cromosomas durante el período meiótico es el normal de la especie, no su mitad, como suponen la mayor parte de los autores.

Ahora bien: si cada uno de estos cromosomas, según Dehorne, está separado en dos mitades por la división longitudinal, es necesario que en la mitosis reductora no se separen estas mitades, porque, de ser así, las células hijas producidas llevarían la misma cantidad y calidad de cromatina, y entonces no se distinguiría en nada de la mitosis somática. Dehorne supone que, durante esta mitosis, los cromosomas (parejas según los demás autores) pasan enteros a las células hijas, en donde sufrirán la segunda división madurativa, que separa las dos ramas que les constituyen, repartiendo la cromatina con completa equidad entre las espermátidas.

Recientemente (1914), BORDÁS (1), en la *Sagitta bipunctata*, pone una seria objeción a la interpretación de DEHORNE. En este animal, en que el número de parejas o cromosomas diacinéticos es impar, si la opinión del autor citado fuese cierta, los dos espermatocitos de segundo orden no recibirían el mismo número de cromosomas y esto no sucede más que en los casos en que existe un cromosoma sexual, que no se presenta en la *Sagitta*.

Yo, por mi parte, he de añadir a la objeción del citólogo mencionado la que se desprende del examen de la figura 35, en la que he dibujado algunas parejas disociándose en sus componentes. Es evidente en este caso, que cada espermatocito de segundo orden recibe 17 cromosomas, probablemente los que se corresponden con los otros 17 de la placa gonial, y que, como he dicho ya (pág. 48), forman parejas cuando se compara entre sí su forma y tamaño. En adición a los 17 cromosomas recibe uno de ellos el cromosoma X, que, por no asociarse con ningún otro, pasa entero a uno de los polos del huso. De la misma manera, la constitución particular del complejo cromosómico hace suponer que cada célula hija recibe uno de los cromosomas grandes (*a* y *b*) y que el elemento X acompaña constantemente a uno de ellos en un espermatocito de segundo orden.

Vemos, por consiguiente, que las ideas de DEHORNE, lo mismo en lo que se refiere a la mitosis somática que al período meiótico, son en absoluto inaplicables al caso presente.



Respecto a la presencia y rasgos más salientes del cromosoma sexual, nada tengo que añadir a los caracteres consignados. La unión de los dos cromosomas grandes con el elemento X no

(1) A la amabilidad del Sr. Bolívar debo el haber podido consultar las pruebas de este trabajo, que se ha publicado simultáneamente al mío.

me parece ser una particularidad de gran importancia. Otros hechos semejantes han sido citados por algunos autores (Mac Clung, 1905; Sinèty, 1901). Una observación que he podido hacer y que no altera en nada el plan fundamental del proceso, es que después de la primera división reductora, los cromosomas del complejo resisten fuertemente a la diferenciación y quedan teñidos intensamente en negro, como si la cromatina que les constituye hubiese cambiado su composición química, probablemente bajo la influencia del cromosoma sexual unido a ellos.

CONCLUSIONES

1.ª La placa ecuatorial de las espermatogonias en *Blaps lusitanica,* posee 35 cromosomas de diverso aspecto, distinguiéndose, particularmente, tres de ellos que adoptan, generalmente, la forma de V y alcanzan un tamaño considerable en relación con los restantes. Entre estos tres cromosomas se pueden establecer dos grupos formados, respectivamente, por dos cromosomas casi iguales entre sí y otro más grande, casi siempre diferenciado precozmente entre los demás durante la profase temprana. Toda su historia a través del período de crecimiento de los espermatocitos de primer orden y su comportamiento particular durante la primera mitosis de maduración (heterotípica) demuestra que corresponde al cromosoma X de Wilson.

2.ª Durante la anafase, los cromosomas *se dividen longitudinalmente*, pudiéndose observar todas las fases del proceso, especialmente en los cromosomas más grandes. El cromosoma X sigue la misma ley en su división que los restantes. Las ideas de Dehorne no tienen aplicación en este caso.

3.ª A consecuencia de divisiones repetidas de las espermatogonias se producen los espermatocitos de primer orden, de me-

nor tamaño que aquéllas; pasan por un período de reposo de bastante duración.

4.ª Al salir del reposo dichos espermatocitos la cromatina se precipita en masas más considerables; el cromosoma X se distingue perfectamente de los restantes por su mayor tamaño y estructura más compacta. Todos los cromosomas caminan progresivamente hacia uno de los hemisferios nucleares, sin que se pueda observar una sindesis bien manifiesta durante este estado.

5.ª La sinapsis coincide con la sindesis. Los cromosomas ocupan uno de los polos del núcleo, formando una masa en la que se hallan condensados, pero sin perder su individualidad. En este estado se tiñen intensamente por la hematoxilina férrica.

6.ª Después de la sindesis viene otra fase en la cual los cromosomas, unidos por parejas, comienzan a alargarse, disgregándose en gránulos dispuestos en filamentos moniliformes. Durante toda la fase de *bouquet* y el estado en que dichos filamentos ocupan por completo el núcleo, no hay indicio alguno de la formación de las asas paquiténicas. *Los cromosomas se conjugan en este caso end to end (metasindesis) como demuestra su evolución ulterior.*

7.ª Durante el estado en que los cromosomas bivalentes en forma de filamentos moniliformes ocupan toda la cavidad nuclear, se puede observar el cromosoma X, que destaca sobre el conjunto por su aspecto de nucleolo, tiñéndose intensamente en negro, por la hematoxilina férrica; en rojo, por la safranina, cuando se emplea combinada con el violeta de genciana; y en verde, por el verde de metilo, cuando se tiñen los cortes por el Biondi-Ehrlich.

8.ª El cromosoma X sirve de punto de apoyo a varios de los filamentos cromáticos, observándose con gran constancia en la mayor parte de los núcleos estudiados la inserción de dos mucho más largos que los restantes, que corresponden a los cromosomas *a* y *b* de la placa gonial. En otros casos, ambos cromoso-

mas se unen directamente entre sí y luego por uno de los extremos de la dualidad así formada con el cromosoma X.

9.ª Después de un largo intervalo, en el que los núcleos presentan la estructura descrita, comienza el período de segunda contracción nuclear, caracterizado por el acortamiento y aumento de grosor de los filamentos que constituyen dualidades bien manifiestas. Durante este estado se puede observar una hendidura longitudinal en algunos de los cromosomas, que es un signo precoz de la división que acaece en la segunda cinesis de maduración.

10.ª Los cromosomas así producidos, en muchos casos, llegan a tocarse por sus extremos, constituyendo un espirema dividido en segmentos correspondientes a cada uno de los cromosomas bivalentes.

Los elementos X, *a* y *b* constituyen un complejo cromosómico en forma de V, que se distingue perfectamente por su mayor tamaño y grosor.

11.ª En la placa ecuatorial de los espermatocitos de primer orden se disponen los cromosomas sensiblemente en el mismo plano, a excepción del complejo X, que generalmente está colocado en distinto plano, con el vértice de la V que le constituye, dirigido hacia uno de los centrosomas y las ramas libres hacia la placa ecuatorial. Se pueden contar, en total, 17 elementos cromáticos que corresponden a los 35 encontrados en la placa gonial. En otros casos bastante numerosos hay solamente 16 que corresponderían a los 33 cromosomas de dicha placa.

12.ª La primera división es reductora (heterotípica); las dos masas que constituyen cada cromosoma bivalente se separan y pasan a las dos células hijas. El complejo cromosómico se disgrega pasando uno de los grandes cromosomas a un espermatocito de segundo orden; el otro y el cromosoma X entran en el otro espermatocito. Por consiguiente, ambas células hijas difieren entre sí por su contenido cromático, toda vez que uno de ellos lleva en adición a los demás cromosomas el elemento X.

13.ª Los espermatocitos de segundo orden, después de un corto período de reposo en que se reconstituye el núcleo sin que los cromosomas lleguen a perder su individualidad, sufren la segunda división madurativa (homeotípica). Cada cromosoma se divide longitudinalmente en dos porciones que pasan, respectivamente a las dos espermátidas producidas. Se pueden distinguir perfectamente ambas clases de espermatocitos. En el caso de existir el cromosoma X, este último se divide como los restantes.

14.ª Finalmente, en las espermátidas se puede también distinguir el cromosoma sexual en algunos de estos elementos, permaneciendo como una masa compacta durante un tiempo bastante largo, para desaparecer, finalmente, disgregándose en gránulos más finos antes de la condensación del material cromático del núcleo que origina la cabeza del espermatozoide.

BIBLIOGRAFÍA [1]

1909*.—Von Baehr (W. B.) Die Oogenese bei einigen viviparen Aphididen und die Spermatogenese von Aphis saliceti. Arch. f. Zellforsch., t. 3.

1909*.—Baltzer (F.) Die Chromosomen von Strongylocentrotus lividus und Echinus microtuberculatus. Idem, t. 2.

1914.—Bordás (Manuel). Doctrinas actuales sobre la reducción numérica de los cromosomas y su aplicación a la espermatogénesis de la Sagitta bipunctata. Quoy et Gaim. Mem. Soc. Españ. Hist. Nat. t. 10.

1909.—Boveri (Th.) Ueber Beziehungen des Chromatins zur Geschlechtsbestimmung. Sitzungsber. phys. med. Ges. Würzburg.

1910*.— —— Ueber Geschlechtschromosomen bei Nematoden. Arch. f. Zellforsch., t. 4.

1909*.—Buchner (P.) Das accessorische Chromosom in Spermatogenese und Ovogenese der Orthopteren. Idem, t. 3.

1910.—Cook (M. H.) Spermatogenesis in Lepidoptera. Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia, t. 62.

1908.—Davis (H. S.) Spermatogenesis in Acrididae and Locustidae. Bull. Mus. Comp. Zoölogy, t. 53.

1910 (a).— Dehorne (A.) La valeur des anses pachytènes et le mécanisme de la réduction chez Sabellaria spinulosa. Compt.-Rend. Acad. Sc. Paris., t. 150.

---

(1) En la presente lista bibliográfica no pretendo citar todas las obras que existen sobre la materia; tan sólo consigno las que yo he consultado más o menos directamente o están citadas en el texto, pues algunas de ellas no han podido llegar a mis manos, pero conozco su contenido por los resúmenes publicados en varias revistas profesionales; en este último caso van marcadas con un asterisco después del año.

1910 (b).—DEHORNE (A.) Le nombre des chromosomes chez les Batraciens et chez las larves parthénogénétiques de Grenouille. Idem. t. 15.

1910 (c).— —— Le mécanisme de la réduction numérique dans la spermatogenese de Ophryotrocha puerilis Clprd-Mecz. Zool. Anz., t. 36.

1911.— —— Recherches sur la division de la Cellule. II. Homéotypie et hétérotypie chez les Annelides polychètes et les Trématodes. Arch. Zool. exper., t. 9. (4).

1902.—DEMOKIDOFF (H.) Zur Kenntniss der Baues des Insektenhodens. (Vorläufige Mittheilung). Zool Anz., t. 25.

1910.—DUESBERG (J.) Nouvelles recherches sur l'appareil mitochondrial des cellules seminales. Arch. f. Zellforsch. T. 6.

1910*.—EDWARDS (C. L.) The Idiochromosomes in Ascaris megalocephala and Ascaris lumbricoides. Idem, t. 5.

1909*.—FOOT (K.), STROBELL. The Nucleoli in the Spermatocytes and Germinal Vesicles of Euschistus variolarius. Biol. Bull., t. 16.

1904.—GRÉGOIRE (V). La réduction numérique des chromosomes et les cinèses de maturation. La Cellule, t. 21.

1995.— —— Les résultats acquis sur les cinèses de maturation dans les deux règnes». Idem, t. 22.

1904.—GROSS (J.) Die Spermatogenese von Syromastes marginatus. Zool. Jahrb.. Anat. u. Ontog., t. 20,

1906.— —— Die Spermatogenese von Pyrrhocoris apterus L. Idem t. 23.

1911*.—GULICK (A.) Ueber die Geschlechtschromosomen bei einigen Nematoden nebst Bemerkungen über die Bedeutung dieser Chromosomen. Arch. f. Zellforsch., t. 6.

1906.—GUTHERZ (S.) Zur Kenntniss der Heterochromosomen. Arch. f. mikr. Anat., t. 69.

1911*.— —— Ueber den gegenwärtigen Stand der Heterochromosomen Forschung. Sitzungsber. d. Ges. Naturf. Freunde, Berlin.

1912.— —— Ueber ein bemerkenswertes Strukturelement (Heterochromosomen?) in der Spermatogenese des Menschen. Arch. f. mikr. Anat., t. 79.

1909.—GUYER (M. F.) The Spermatogenesis of the domestic Guinea. Anat. Anz., t. 34.

1910*.— —— Accessory Chromosomes in Man. Biol. Bull., t. 19.

1904.—HAECKER (V.) Heterotypische Teilung, Reduction und andere Zelltheoretische Begriffe. Zool. Anz., t. 28.

1891.—HENKING (H.) Untersuchungen über die ersten Entwilcklungsvor-

gänge in der Eiern der Insekten. II. Ueber Spermatogenese und deren Beziehung zur Entwicklung bei Pyrrhocoris apterus L. Zeitschr. f. wiss. Zool., t. 51.

1912.—Hertwig (O.) Allgemeine Biologie. 4 Auflage, Jena.

1901.—Holmgren (N.) Ueber den Bau der Hoden und die Spermatogenese von Staphylinus. Anat. Anz., t. 19.

1902.— —— Ueber den Bau des Hodens und die Spermatogenese von Silpha carinata. Idem, t. 22.

1901.—Mac Clung. (C. E.) Notes on the accesory chromosomes. Idem, t. 20.

1902*.— —— The Accessory Chromosome-Sex Determinant? Biol. Bull., t. 3.

1905*.— —— The chromosome complex of Orthopteran Spermatocytes. Idem, t. 9.

1900.—Meves (F.) Ueber den von La Valette Saint-George entdeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. Arch. f. mikr. Anat., t. 56.

1898.—Montgomery, (TH. H.) The Spermatogenesis in Pentatoma up to the formation of the Spermatid. Zool. Jahrb., t. 12.

1898.— —— Chromatin Reduction in the Hemiptera: a Correction. Zool. Anz., t. 22.

1901.— —— Further Studies on the chromosomes of the Hemiptera Heteroptera. Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia, t. 53.

1904.— —— Prof. Valentin Häcker's Critical Review on Bastardization and Formation of the Sex-Cells. Zool. Anz. t. 27.

1905.— —— The Spermatogenesis of Syrbula and Lycosa, with general considerations upon Chromosome Reduction and the Heterochromosomes. Proc. Acad. Nat. Sc. Philadelphia, t. 58.

1906*.— —— The Terminology of aberrant Chromosomes and their behavior in certain Hemiptera. Science, t. 23.

1909.—Morgan (T. H.) A biological and cytological Study of Sex determination in Phylloxerans and Aphids. Journ. exper. Zoology, t. 7.

1910*.—Morrill (C. V.) The Chromosomes in the ovogenesis, fertilization and cleavage of Coreid Hemiptera. Biol. Bull.. T. 19.

1906.—Nowlin (W. N.) A study of the Spermatogenesis of Coptocycla aurichalcea and Coptocycla guttata with special Reference to the problem of Sex-Determination. Journ. exper. Zool., t. 3.

1907.—Otte (H.) Samenreifung und Samebildung bei Locusta viridissima. Zool. Jahrb., t. 24.

1899.—Paulmier (F. C.) The Spermatogenesis of Anasa tristis. Journ. Morphol., Suppl., t. 15.

1909*.—Payne (F.) Some new types of Chromosome distribution and their Relation to Sex. Biol. Bull., t. 16.

1910*.— —— The Chromosomes of Acholla multispinosa. Idem, t. 18.

1901.—Prowazek (S.) Spermatologische Studien. II. Spermatogenese des Nashornkäfers (Oryctes nasicornis L.) Arb. zool. Inst. Wien, t. 13.

1906.—Schaefer (F.) Spermatogenese von Dytiscus. Ein Beitrag zur Frage der Chromatinreduktion. Zool. Jahrb., t. 23.

1901.—Sinèty (R. de) Cinèses spermatocytiques et chromosome special chez les Orthoptères». Compt.-Rend. Acad. Sc. Paris., t. 113.

1901.— —— Recherches sur la Biologie et l'Anatomie des Phasmes. La Cellule, t. 19.

1905.—Stevens (Nellie M.) Studies in Spermatogenesis with special Reference to the «Accessory Chromosome». Carnegie Inst. Washington, Publish., 36.

1906*.— —— Studies in Spermatogenesis. II. A. Comparative Study of the Heterochromosomes in certain Species of Coleoptera, Hemiptera and Lepidoptera, with Special Reference to Sex Determination. Idem, 39, núm. 2.

1908.— —— The Chromosomes in Diabrotica vittata, Diabrotica soror and Diabrotica 12-punctata. A Contribution to the Literature on Heterochromosomes and Sex-Determination. Journ. exper. Zool. t. 5.

1909 (a).— —— Further Studies on the Chromosomes of the Coleoptera. Idem, t. 6.

1909 (b).— —— An unpaired Heterochromosome in the Aphids. Id., t. 6.

1910.— —— An unequal Pair of Heterochromosomes in Forficula. Idem, t. 6.

1903*.—Sutton (W.) The Chromosomes in Heredity. Biol. Bull., t. 4.

1911.—Thomson (J. A.) The Determination of Sex. Journ. Roy. Micr. Soc.

1903.—Voinov (D. N.) La Spermatogénèse d'été chez le Cybister Roeselii. Arch. Zool. expèr., t. 1. (4).

1907.—Wassilieff (A.) Die Spermatogenese von Blatta germanica. Arch. mikr. Anat., t. 70.

1895.—Wilcox (E. V.) Spermatogenesis of Caloptenus femur-rubrum and Cicada tibicen. Bull. Mus. Comp. Zool., t. 27.

1904.—Wilson (E. B.) The Cell in Development and Inheritance 2.nd Edition. New York.

1905 (a).— WILSON (E. B.) Studies on Chromosomes. I.—The Behavior of the Idio chromosomes in Hemiptera. Journ. exper. Zool., t. 2.

1905 (b).— —— II. The paired microchromosomes, idiochromosomes and heterotropic chromosomes in Hemiptera. Idem, t. 2.

1906.— —— III. The Sexual differences of the Chromosome groups in Hemiptera with some considerations on the determination and Inheritance of Sex. Idem, t. 3.

1909 (a).— —— IV. The «Accessory» Chromosome in Syromastes and Pyrrhocoris with a comparative Review of the Types of sexual Differences of the Chromosome Groups. Idem, t. 6.

1909 (b).— —— V. The Chromosomes in Metapodius. A contribution to the Hypothesis of the genetic Continuity of Chromosomes. Idem, t. 6.

1910.— —— VI. A New Type of Chromosome Combination in Metapodius. Idem, t. 9.

1911.— —— VII. A Review of the Chromosomes of Nezara with some more general Considerations. Journ. of Morphol. t.

1911.— —— The Sex Chromosomes. Arch. f. mikr. Anat. t. 77.

1906.—ZWEIGER (H.) Die Spermatogenese von Forficula auricularia. Zool. Anz. t. 30.



EXPLICACIÓN DE LAS FIGURAS

Excepto la figura 1.ª, todas las demás han sido proyectadas usando la siguiente combinación: Zeiss, obj. apocr. 2 mm. (ap. núm. 1,30), ocul. comp. 18 (long. tubo 160 mm.), mediante la cámara clara de Abbe, sobre el papel al nivel de la mesa. El aumento obtenido es de 3.100 diámetros; para la reproducción han sido reducidas a $^2/_3$.

Salvo indicación contraria todas las figuras han sido tomadas de preparaciones fijadas por el licor de Bouin y teñidas por el *Lichtgrün* y la hematoxilina férrica. En todas ellas, la letra X indica el cromosoma sexual.

Fig. 1.—Corte longitudinal del extremo ciego de un folículo testicular, *e.*, epitelio testicular; *ep. g.*, epitelio germinativo; *es. 1.*, espermatogonia primaria; *es. 2.*, espermatogonias secundarias formando una roseta; *es.*, generaciones ulteriores de las mismas, *esc.*, espermatocito de primer orden en la fase de sinapsis: *ft.*; formación terminal del folículo; *mb.*, membrana propia del mismo; *tr.*, tráqueas. × 366

Fig. 2.—Espermatogonia primaria rodeada de células foliculares (*c. f.*) y de una célula genital primaria *g.*, que principia el período de crecimiento. *mb.*, membrana basal del folículo; *c.* centrosoma.

Fig. 3.—Espermatogonia secundaria durante el período de reposo. *c.* centrosoma; *f.* mitosoma.

Fig. 4.—Idem durante la profase temprana.

Fig. 5.—Idem en un estado más avanzado de la profase.

Fig. 6.—Final de la profase espermatogonial.

Fig. 7.—Metafase vista de lado.

Fig. 8.—Placa ecuatorial vista desde uno de los polos del huso.

Fig. 9.—Comienzo de la anafase.

Fig. 10.—Anafase final.

Fig. 11.—Comienzo de la telofase.

Fig. 12.—Un estado más avanzado de la misma.

Fig. 13.—Espermatogonia perteneciente a una de las últimas generaciones; el contenido nuclear está en los comienzos de la profase.

Fig. 14.—Espermatocito de primer orden durante el estado de reposo citario.

Fig. 15.—Idem al principiar la profase.

Fig. 16.—Estado más avanzado de la misma.

Fig. 17.—Final de la profase; el núcleo está visto en sección óptica. Bouin, Hematox. férr.

Figs. 18-20.—Varios estados de la contracción sináptica.

Fig. 21.—Comienzo de la formación del *bouquet*.

Figs. 22-25.—Diversos aspectos del estado de *bouquet;* la figura 23 representa uno de estos núcleos visto desde el polo en que la cromatina está acumulada; *f.*, resto fusorial (mitosoma).

Fig. 26.—Espermatocito de primer orden al terminar la fase de crecimiento; *f.*, resto fusorial.

Fig. 27.—Núcleo de otro espermatocito durante este mismo estado.

Fig. 28.—Comienzo de la segunda contracción nuclear; *m.*, cuerpo mitocondrial constituído por largos filamentos; *f.*, resto fusorial.

Fig. 29.—Detalles de algunos cromosomas divididos que se encuentran durante este estado.

Fig. 30.—Fase más avanzada de la segunda contracción; *m.*, cuerpo mitocondrial.

Figs. 31 y 32.—Final de la profase heterotípica.

Fig. 33.—Placa ecuatorial de un espermatocito de primer orden, vista de lado.

Fig. 34.—La misma, vista polar. El complejo X, aunque no está colocado en el mismo plano, ha sido dibujado; *b* es uno de los cromosomas bivalentes visto de lado.

Fig. 35.—Metacinesis. El complejo X ha comenzado a disociarse; algunos de los cromosomas bivalentes se han separado ya en las partes que les constituyen; *m.*, facículo mitocondrial.

Figs. 36-39.—Varios estados de la anafase de los espermatocitos de primer orden.

Fig. 40.—Telofase del espermatocito de segundo orden.

Figs. 41 y 42.—Formación del huso de la segunda mitosis madurativa en los espermatocitos de segundo orden; en el representado en la fig. 42 existe el cromosoma X.

Fig. 43.—Estado más avanzado de la formación del huso. Los cromosomas

se agrupan densamente para formar la placa ecuatorial. ZENKER, Hematox. férr.

Fig. 44.—Placa ecuatorial de un espermatocito de segundo orden, provisto de cromosoma X.

Fig. 45.—Anafase del mismo.

Fig. 46.—Anafase de un espermatocito sin cromosoma sexual, vista de lado.

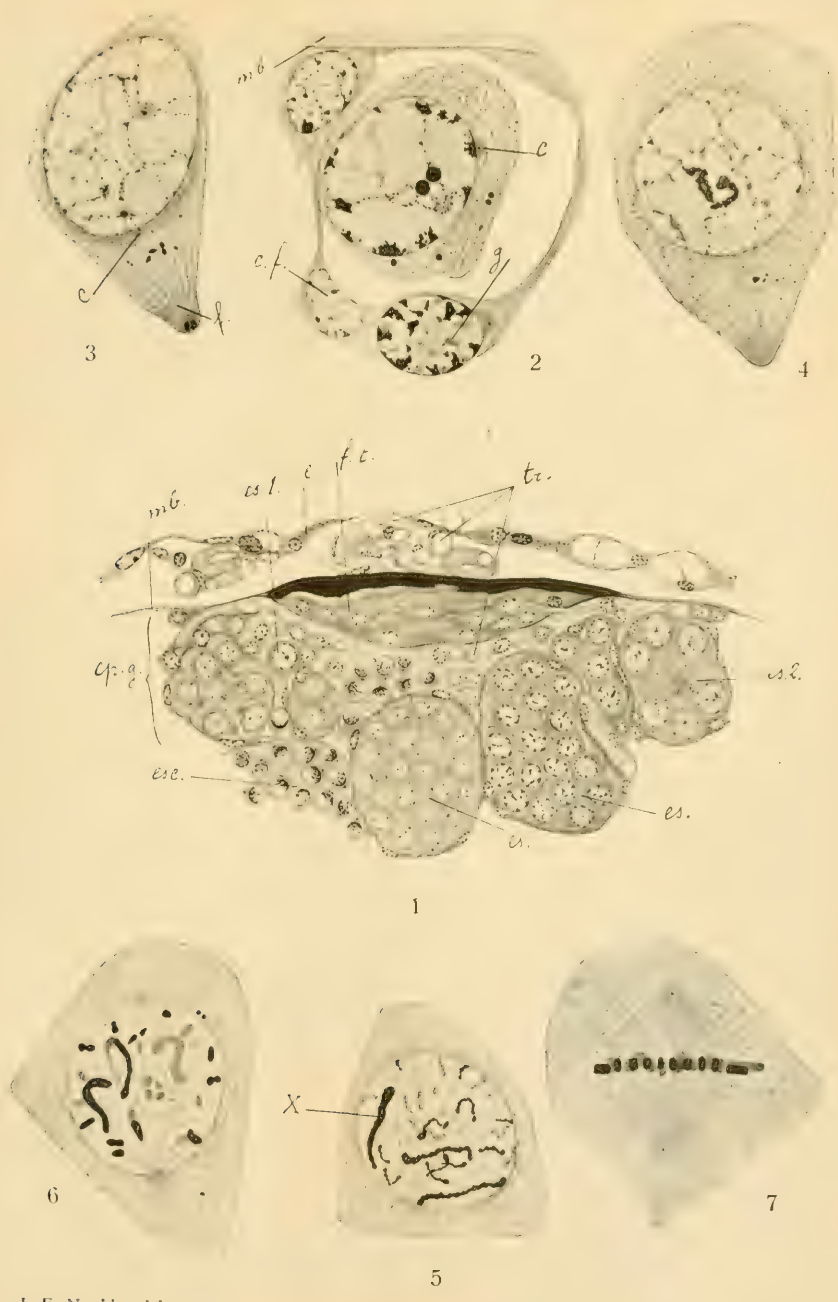
Fig. 47.—Estrella hija en un espermatocito sin cromosoma X. Vista polar.

Figs. 48 y 49.—Dos estados de la anafase en los espermatocitos de segundo orden.

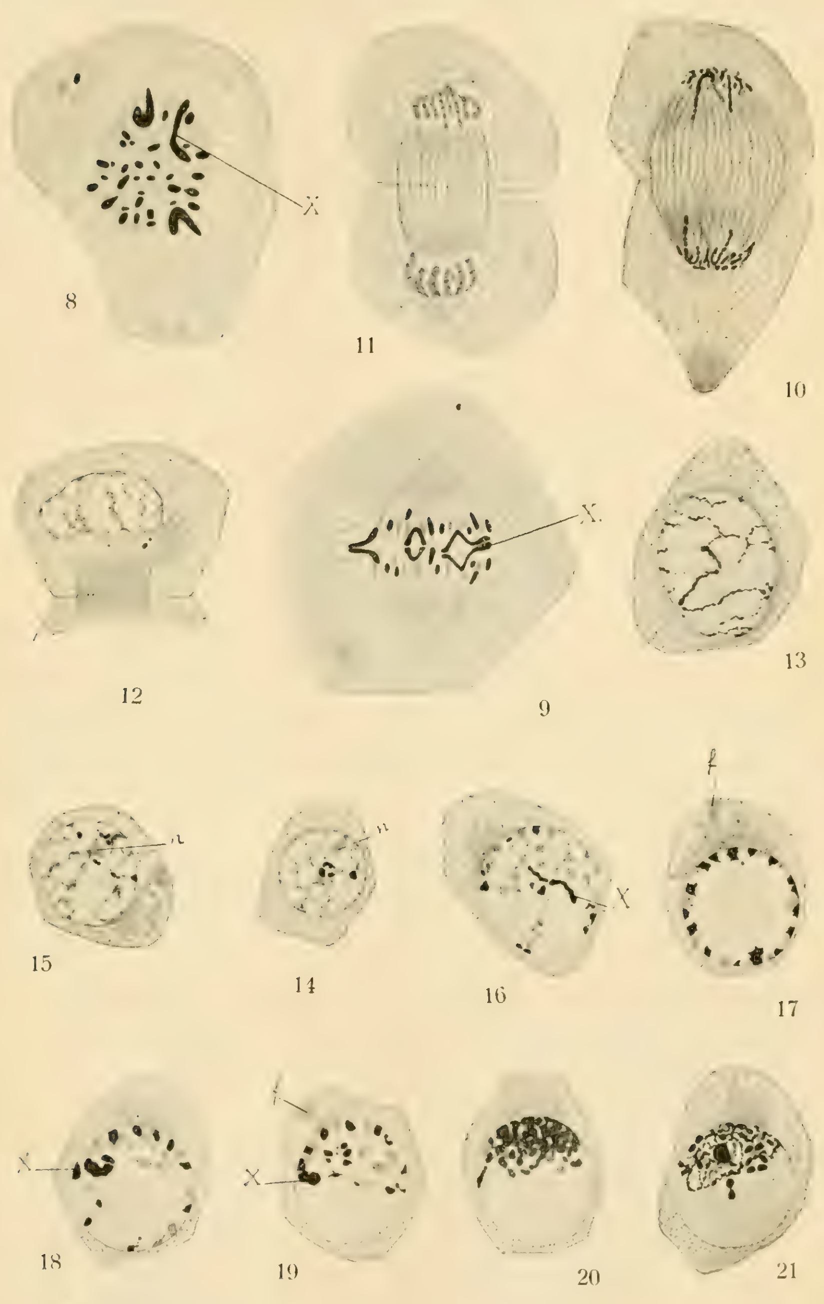
Fig. 50.—Espermátida poco después de originarse.

Figs. 51 y 52.—Espermátidas que comienzan su transformación en espermatozoides. ZENKER, Hematox. férr.

Figs. 53 y 55.—Tres estados más avanzados de dicha transformación.

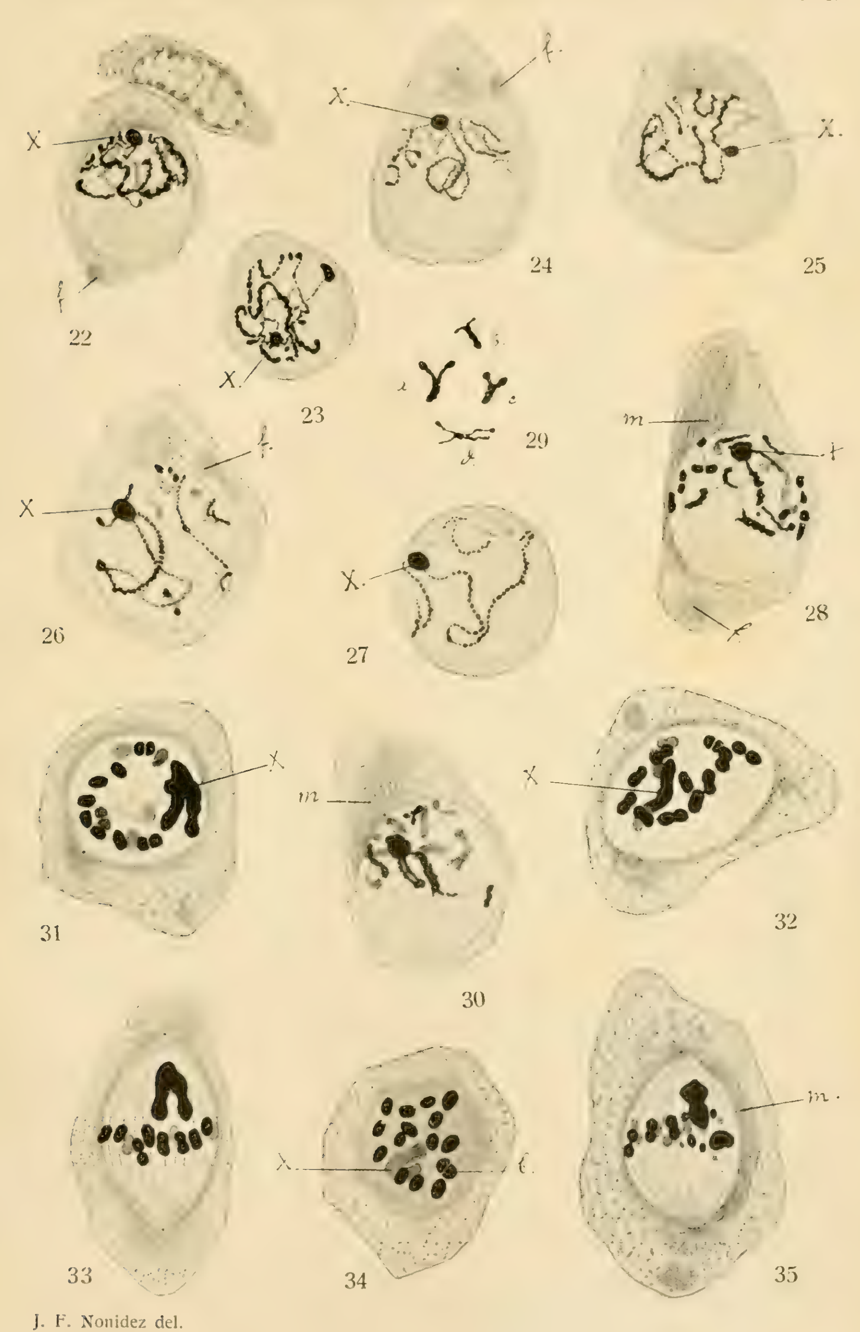


J. F. Nonidez del.

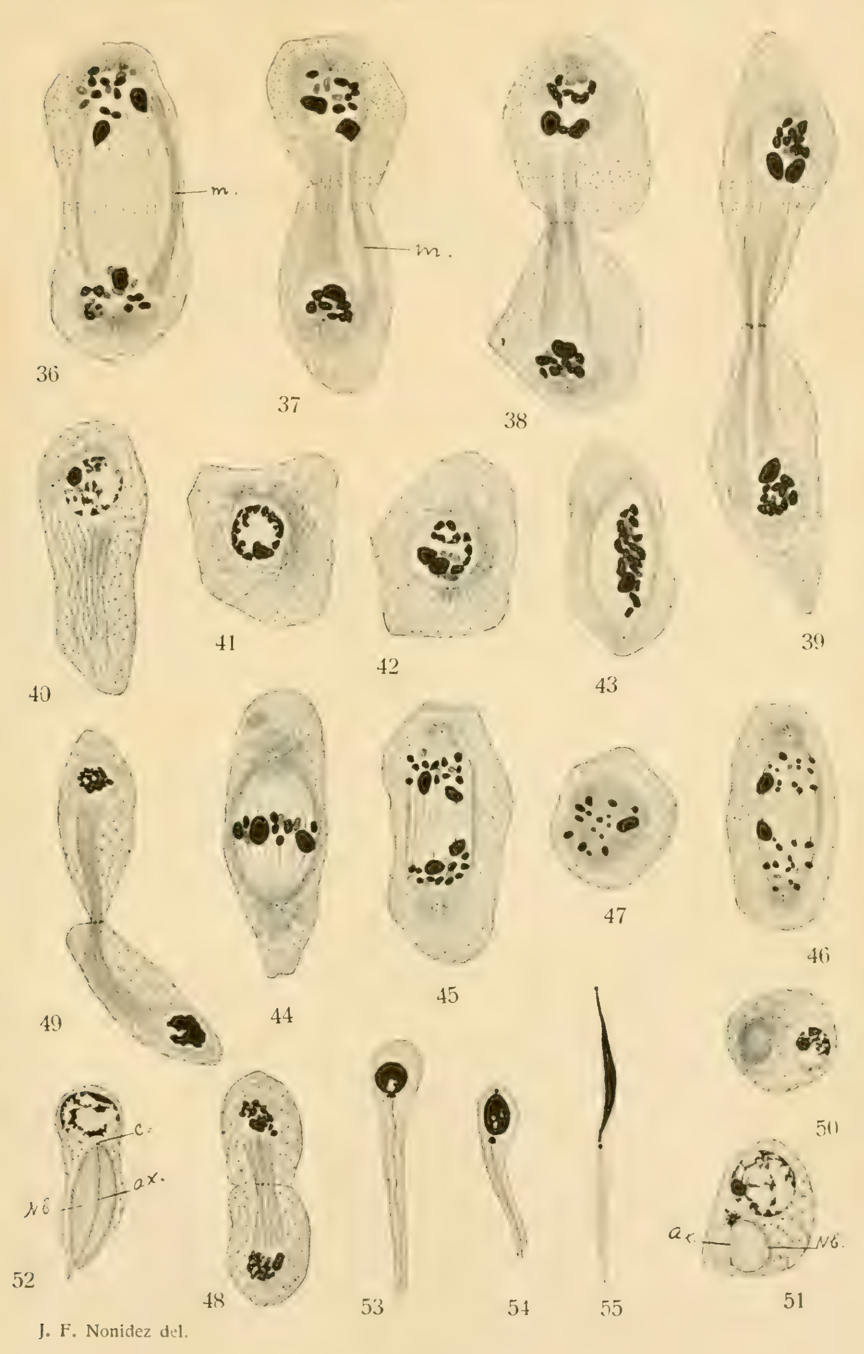


J. F. Nonidez del.

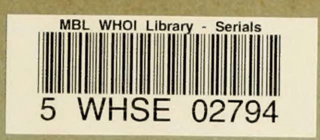
Trab. del Mus. Nac. de Cienc. Nat. de Madrid.—Ser. Zool. núm. 18. 1914.



J. F. Nonidez del.



J. F. Nonidez del.


MBL WHOI Library - Serials
5 WHSE 02794